

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1904

THÈSE

N^o —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 21 Juillet 1904, à 4 heure

PAR

Georges BOURCART

RECHERCHES SUR L'AGGLUTINATION

ET EN PARTICULIER SUR

L'AGGLUTINATION DU STREPTOCOQUE

DANS LA SCARLATINE

PRÉSIDENT : M. DEBOVE, Professeur.

JUGES	{	MM. CHANTEMESSE, Professeur.	}	Agrévés.
		ACHARD,		
		BEZANÇON,		

PARIS

LIBRAIRIE MÉDICALE ET SCIENTIFIQUE

JULES ROUSSET

I, RUE CASIMIR-DELAVIGNE ET RUE MONSIEUR-LE-PRINCE, 12
(Anciennement 36, rue Serpente)

1904

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen. Professeurs.	M. DEBOVE. MM.
Anatomie	POIRIER.
Physiologie	CH. RICHET.
Physique médicale.	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales.	BOUCHARD.
Pathologie médicale	HUTINEL.
Pathologie chirurgicale	BRISAUD.
Anatomie pathologique	LANNELONGUE
Histologie	CORNIL.
Opérations et appareils	MATHIAS DUVAL
Pharmacologie et Matière médicale	BERGER.
Thérapeutique	POUCHET.
Hygiène	GILBERT
Médecine légale	N....
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BROUARDEL.
Pathologie comparée et expérimentale.	DEJERINE.
	CHANTEMESSE
	DEBOVE.
Clinique médicale.	LANDOUZY.
	HAYEM.
	DIEULAFOY.
Clinique des maladies des enfants.	GRANCHER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY.
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND.
	TERRIER.
Clinique chirurgicale.	DUPLAY.
	LE DENTU.
	TILLAUD.
Clinique ophtalmologique	LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	GUYON.
Clinique d'accouchement.	PINARD.
Clinique gynécologique	BUDIN.
Clinique chirurgicale infantile.	POZZI.
	KIRMISSON.

Agrégés en exercice.

MM.	DESGREZ.	LAUNOIS.	RIEFFEL, chef des trav. anat.
ACHARD.	DUPRE.	LEGREY.	TEISSIER.
AUVRAY.	FAURE.	LEGUEU.	THIERY.
BEZANÇON.	GILLES DE LA	LEPAGE.	THIROLOIX.
BONNAIRE.	TOURETTE.	MARION.	THOINOT.
BROCA (AUG.).	GOSSET.	MAUCLAIRE.	VAQUEZ.
BROCA (ANDRÉ).	GOUJET.	MERY.	WALLICH.
CHASSEVANT.	GUIART.	POTOCKI.	WALTHER.
CUNEO.	HARTMANN.	REMY.	WIDAL.
DEMELIN.	JEANSELME.	RENON.	WURTZ.
	LANGLOIS.	RICHAUD.	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MAÎTRE
MONSIEUR LE DOCTEUR MARFAN

PROFESSEUR AGRÉGÉ
MÉDECIN DES HOPITAUX
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. MERKLEN

MÉDECIN DES HOPITAUX
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR DEBOVE

MÉDECIN DES HOPITAUX
DOYEN DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
MEMBRE DE L'ACADÉMIE
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Travail du Laboratoire de M. Marfan
à l'Hôpital des Enfants-Malades

INTRODUCTION

Le sang et les humeurs d'un individu atteint d'une maladie microbienne possèdent, en général, une propriété spéciale, dite propriété agglutinante, vis-à-vis du micro-organisme qui est la cause de cette infection.

Cette propriété était connue depuis 1889. Découverte accessoirement, dans des recherches sur la substance immunisante des sérums préventifs, elle ne fut appliquée d'abord qu'à la différenciation des races microbiennes.

Widal, en 1896, propose de l'utiliser comme moyen de diagnostic de la fièvre typhoïde. Cette méthode a pleinement confirmé l'espoir qu'on avait en elle et nous possédons pour le diagnostic de la dothiérien-térie une réaction de laboratoire sûre, facile et rapide, qui rend chaque jour les plus grands services au médecin. Au milieu des incertitudes des symptômes cliniques, qui laissent souvent le praticien dans le doute, une méthode positive lui est du plus grand secours. On devait donc chercher à généraliser ces données et à faire, pour différentes infec-

tions, ce qui avait été fait pour la fièvre typhoïde. Les nombreuses recherches entreprises dans ce but, n'ont pas donné, malheureusement, tous les résultats pratiques qu'on était en droit d'en attendre. Cette réaction agglutinante a été retrouvée dans presque toutes les maladies à microbe spécifique, mais la technique trop compliquée, ou des résultats trop variables et incertains, n'ont pas permis de l'utiliser suffisamment dans la pratique courante.

Sur les conseils de notre maître, M. Marfan, nous avons essayé d'appliquer cette méthode de l'agglutination à l'étude d'un problème qui se pose souvent au Pavillon de la Diphtérie. Dans ce service, on constate fréquemment des érythèmes scarlatiniformes, dans le cours de la diphtérie traitée par le sérum antidiphtérique. M. Marfan insiste sur les difficultés de ce diagnostic, reconnues du reste par d'autres auteurs, Germain Sée, Mussy, Hutinel, Sevestre, Martin. Notre but était donc de chercher un séro-diagnostic de la scarlatine, ou tout au moins une méthode analogue à celle de Widal, permettant de trancher le diagnostic dans ces cas douteux de scarlatine et donnant la possibilité d'établir rapidement un diagnostic ferme dans les cas frustes sans éruption. Nous avons donc cherché si le streptocoque de la scarlatine était agglutiné par le sérum scarlatineux, et rien que par ce sérum. Il est vrai que des recherches avaient déjà été entreprises dans ce sens en Allemagne, mais les résultats n'étaient pas concordants, et la technique longue et compliquée. D'autre

part, possédant une réaction spécifique du streptocoque, nous pouvions l'utiliser pour la classification de certains microbes et pour la recherche de leur spécificité; et nous nous proposons de l'appliquer ensuite à l'étude de la spécificité du diplococcus hémophilus décrit par MM. Deguy et Legros (1), (2), diplocoque d'infection secondaire, dont la présence dans le sang est signalée par M. Deguy dans tous les cas d'angine diphtérique maligne et dans presque tous les cas d'érythème scarlatiniforme tardif. Les circonstances nous ont obligé à limiter nos recherches à ce qui concerne l'agglutination du streptocoque en chaînettes et à laisser de côté leur application au diplocoque métadiphtérique de Deguy et Legros.

Nous devons dire, dès maintenant, que nous n'avons pas obtenu de résultats assez constants ni assez évidents pour en déduire un séro-diagnostic dans la scarlatine. Néanmoins, nous avons pensé qu'il ne serait pas inutile de publier les expériences que nous avons faites et d'indiquer la méthode que nous avons suivie, parce que nous pouvions par là contribuer, sur certains points, à l'étude de l'importante question de l'agglutination.

C'est notre maître, M. Marfan, qui nous a engagé à faire ce travail, c'est dans son laboratoire, sous sa direction et avec ses conseils que nous l'avons poursuivi; nous lui en exprimons notre profonde recon-

(1) Deguy et Legros. — *Soc. méd. des Hôp.* 16 mai 1902.

(2) Marfan. — *Soc. méd. des Hôp.* 11 juillet 1902.

naissance et nous garderons toujours le souvenir du Maître qui nous a témoigné tant d'intérêt, de bienveillance et de bonté.

Nous remercions M. le Dr Deguy, chef de laboratoire, de ses bons conseils et de l'amabilité avec laquelle il nous a reçu dans son laboratoire.

Nos recherches ont été faites, en grande partie, en collaboration avec M. Detot, interne des hôpitaux ; nous sommes heureux d'avoir pu travailler à ses côtés qu'il reçoive ici l'expression de notre amitié.

Notre travail est divisé de la façon suivante : Dans une première partie (*Historique*) nous exposons rapidement l'histoire de l'agglutination et de son application au séro-diagnostic de la fièvre typhoïde et des autres infections ; nous donnons ensuite l'historique complet de l'agglutination du streptocoque dans la scarlatine.

Dans la deuxième partie, nous exposons nos recherches personnelles, c'est-à-dire la méthode que nous avons suivie et les résultats de nos expériences. La troisième et dernière partie comprend l'interprétation de ces résultats et les conclusions qu'on en peut tirer.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE I

L'AGGLUTINATION EN GÉNÉRAL ET EN PARTICULIER DANS LA FIÈVRE TYPHOÏDE

Le 26 juin 1896, Widal (1) fait part à la Société médicale des Hôpitaux de sa découverte du séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. De ce jour, le phénomène de l'agglutination trouve son application utile et la méthode de séro-diagnostic entre dans la pratique médicale courante.

Déjà en 1889, Charrin et Roger (2) avaient vu et décrit les premiers le phénomène de l'agglutination. Ils avaient remarqué que la culture du bacille pyocyanique dans le sérum d'un animal immunisé est claire et transparente, que les microbes sont réunis

(1) Widal. — « Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde » Soc. méd. des hôp., 26 juin 1896.

(2) Charrin et Roger. — *Soc. de biologie*. Paris, 1889, p. 667.

en grumeaux qui tombent au fond du tube au repos, que les éléments au microscope sont enchevêtrés et réunis en petits amas ; ils ajoutent que ce phénomène ne se produit pas avec du sérum normal.

En 1891, Metchnikoff (1) fait des constatations analogues pour le vibrion Metchnikovi. Il signale le même fait pour le microbe de la pneumonie. Deux ans après, Issaëff (2) le constate à nouveau. Ces auteurs, faisant des recherches sur l'immunité et sur la destruction des microbes, soit par phagocytose (Metchnikoff), soit par l'action bactéricide des humeurs (Pfeiffer), avaient donc vu accessoirement le phénomène de « l'agglomération », mais n'en avaient pas tiré de conclusions et ne lui avaient pas donné une portée générale.

En 1894, Pfeiffer (3) remarque que les vibrions cholériques injectés dans le péritoine d'un cobaye neuf avec du sérum d'un animal immunisé contre le choléra, s'immobilisent et subissent une transformation granuleuse. Cette réaction, pour lui, était spécifique et permettait de différencier le vibrion cholérique des autres vibrions. Cette transformation granuleuse, ce « phénomène de Pfeiffer », par sa spécificité, donnait donc une méthode nouvelle pour arriver à l'identification d'un microbe. Cette publication eut un grand retentissement.

(1) Metchnikoff. — *Etudes sur l'immunité*, 4^e mémoire. *Annales de l'Institut Pasteur* 1891, n° 8, p. 473 et 474.

(2) Issaëff. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893, p. 269.

(3) Pfeiffer. — *Zeitchr. f. Hygiène* 1894, t. XVIII, p. 1.

Pfeiffer (1) montre aussi que le sérum des hommes convalescents du choléra agit comme celui d'un animal immunisé. En 1896, il proposera la même méthode pour distinguer le bacille d'Eberth du coli-bacille. Metchnikoff (2) et Bordet (3-4) confrôlent ces expériences et simplifient le procédé en montrant que le phénomène de Pfeiffer se produit aussi in vitro.

En 1896, Gruber (5) et Durham (6) décrivent le phénomène de l'agglutination avec la réaction macroscopique par culture en bouillon et la réaction instantanée sous le microscope. Ils proposent cette méthode plutôt que celle de Pfeiffer pour le diagnostic du vibrion cholérique et du bacille d'Eberth. Pfeiffer (7) confirme cette méthode.

La question en était là lorsque, le 26 juin 1896, Widal (8) fit sa communication retentissante à la Société Médicale des Hôpitaux. Il démontre que dans le cours et même au début de la *fièvre typhoïde*, il existe une réaction agglutinante spécifique du sérum de ces malades vis-à-vis du bacille d'Eberth et il propose d'appliquer ce phénomène au diagnostic des

(1) Pfeiffer. — Zeitschr. f. Hygiène 1895, t. XIX, p. 78.

(2) Metchnikoff. — Annales de l'Inst. Pasteur 1895, p. 443.

(3) Bordet. — Annales de l'Inst. Pasteur 1895, p. 490.

(4) Bordet. — Annales de l'Inst. Pasteur 1895, p. 496.

(5) Gruber. — *Wiën. Klin. Wochenschr.* 1896, n^{os} 11 et 12, 12^e et 19 mars.

(6) Durham. — *Journ. of. bact. and pathol.* 1896, vol. IV, n^o 1.

(7) Pfeiffer et Kolle. — *Deutsch. med. Wochenschr.* 1896, n^o 12.

(8) Widal. — *Sero-diagnostic de la fièvre typhoïde. Soc. med. des Hôp.*, 26 Juin 1896.

maladies. C'est le séro-diagnostic de Widal, dont on conçoit de suite toute l'importance clinique. C'est la technique de l'agglutination déjà décrite par Gruber et Durham, puis contrôlée par Pfeiffer et Kolle pour le diagnostic du bacille d'Eberth, mais Widal l'applique à l'homme et au diagnostic de la maladie. Il résume encore cette technique et la simplifie. Dans la première méthode macroscopique, on ajoute à une culture jeune en bouillon de bacille d'Eberth quelques gouttes de sérum provenant du malade atteint de fièvre typhoïde. On place le tube ensuite à l'étuve et, après 24 heures, le liquide est devenu clair, les microbes sont tombés au fond du tube où ils forment un dépôt en grumeaux. Dans la deuxième méthode, on ajoute, à une culture vérifiée, quelques gouttes de sérum et on examine au microscope de 5 minutes à une demi-heure après ; les bacilles au lieu d'être mobiles et disséminés sont réunis en amas immobiles. C'est cette méthode microscopique extemporanée qui est adoptée couramment. La dilution se fait au 1/10 ou au 1/20 : une goutte de sérum pour 20 de culture. On peut ainsi, en quelques instants, d'une façon précise, avec une réaction simple, faire le diagnostic parfois si difficile de la fièvre typhoïde.

La méthode de séro-diagnostic de Widal fut aussitôt contrôlée et confirmée. De nombreuses publications paraissent : Dieulafoy (1) Achard (2) Cour-

(1) Dieulafoy. — Bull. de l'Ac. de méd. 1896. 3 s. xxxvi, p. 7.

(2) Achard. — Soc. méd. des Hôp., 24 juillet 1896.

mont (1), viennent confirmer la valeur de cette méthode. En 1897, Paul Courmont (2) publiera encore 240 cas de séro-diagnostic positif chez des typhiques. La question est discutée longuement et fréquemment à la Société médicale des hôpitaux par Widal, Achard, Chantemesse, Lemoine, etc. A l'étranger, Breuer (3), Lichtheim (4) et d'autres apportent leurs observations. Des cas négatifs, il est vrai, ont été publiés; mais il sont explicables par un défaut soit dans le degré de la dilution du sérum, soit dans la méthode. La valeur de la réaction reste la même.

Nous savons que la dilution est faite habituellement dans les proportions de 1/20 à 1/50. Widal lui-même demande à ce qu'il soit fait plusieurs épreuves commençant par une dilution forte pour arriver à des taux plus faibles: de 1/10 puis 1/20, 1/50 et même plus, le pouvoir agglutinatif étant variable; un mélange trop concentré pouvant donner lieu à une agglutination sans que le sérum possède de propriété spécifique, ce simple fait peut expliquer les erreurs possibles. — Debove (5) dans une discussion sur l'apparition tardive de la séro-réaction cite 3 cas de fièvre typhoïde anormale, dans lesquels le séro-diagnostic fut négatif d'abord et n'apparut que dans la suite, alors qu'il n'avait plus d'utilité. Mais ce

(1) Courmont. — Soc. de biologie, 25 juillet 1896.

(2) P. Courmont. — Soc. de biol., 29 mai et 24 juillet 1897.

(3) Breuer. — Berlin. Klin. Wochenschr., 23 et 30 nov. 1896.

(4) Lichtheim. — Deutsch. med. Wochenschr., 1896, n° 50.

(5) Debove. — Soc. méd. des hop., 7 mai 1897.

n'est ici qu'une série exceptionnelle et qui n'entache en rien l'utilité du séro-diagnostic, même dans les formes anormales.

Les observations deviennent extrêmement nombreuses. La méthode est adoptée définitivement.

Nous ne mentionnerons pas les très nombreuses publications faites dans la suite sur le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde.

Plus tard, Widal et Sicard (1) montrent que la réaction peut se faire avec l'emploi de bacilles morts, soit par stérilisation avec une chaleur modérée (56° pendant trois quarts d'heure), soit par l'addition de substances antiseptiques: formol ou chloroforme, ainsi que Bordet (2) l'avait déjà constaté dans ses études sur le vibron cholérique. Puis Widal et Sicard (3), avec du sang typhique desséché, dissous dans de l'eau (ou mieux dans du bouillon) provoquent l'agglutination; les bacilles desséchés gardent leur pouvoir agglutinatif pendant 3 à 4 semaines. Cette méthode trouve donc encore ici, une nouvelle application en médecine légale.

La question du séro-diagnostic de la dothiènéntérie est à peu près résolue; citons encore la thèse de Bensaude (4), travail très complet, qui résume l'état de la question à cette époque.

(1) Widal et Sicard. — Soc. de biologie, 30 janvier 1897

(2) Bordet. — Annales de l'Institut Pasteur. Avril 1896, p. 268.

(3) Widal. — Soc. méd. des Hôp. 26 juin 1896 et Widal et Sicard, Soc. de biologie, 30 janvier 1897.

(4) Bensaude. — Paris, 1897.

CHAPITRE II

LE PHÉNOMÈNE DE L'AGGLUTINATION

En parcourant les différentes théories sur l'interprétation de la nature même du phénomène de l'agglutination, nous verrons que cette question n'est pas encore définitivement éclaircie. Gruber (1) et Pfeiffer admettent une substance « l'agglutine » qui, se trouvant dans la partie liquide des humeurs, possède la propriété de rendre la membrane d'enveloppe microbienne visqueuse, d'où agglomération. Gruber en fait une réaction d'immunité. Roger (2) soutient la même interprétation. Pour Metchnikoff et Bordet (3), ce serait une réaction de défense de l'organisme et cette propriété aurait une origine exclusivement leucocytaire. Le fait même du dépôt en amas s'explique pour Krauss (4) par un simple phénomène physique, puisqu'il obtient une agglutination sur une culture limpide et filtrée. Bordet, qui

(1) Gruber. — Wiener Klin. Wochenschr. n^{os} 11 et 12, 1896, p. 183 et 201.

(2) Roger. — Revue générale des sciences 1896.

(3) Bordet. — Ann. Inst. Pasteur, 1899 p. 225.

(4) Krauss. — Wiener Klin. Wochenschr. 12 août 1897 n^o 3.

a consacré de longues études au mécanisme de l'agglutination, se rattache aussi en partie à cette théorie ; pour lui, les microbes sont entraînés par un précipité extra-microbien, dû à un phénomène physique. Les microbes jouent donc un rôle passif ; la propriété qu'ils ont de s'agglutiner n'est pas une réaction vitale puisqu'elle existe encore avec des bacilles morts. Cette propriété n'est pas liée aux microbes, puisqu'elle se produit avec des cultures filtrées, sans corps microbiens, avec des particules inertes, telles que le talc, avec des globules rouges.

Nous ne faisons que mentionner Paltanoff qui parle d'un coagulum dans les mailles duquel les microbes sont entraînés et Dineur (1) qui y voit une adhésion spéciale entre les cils vibratiles. En 1902, Defalle (2) reprend cette théorie et pense que l'agglutinine ou les sensibilisatrices pourraient être les produits de la membrane d'enveloppe du microbe, des cils vibratiles particulièrement. Nicolle (3) dit que le corps de certains microbes renferme une substance particulière « agglutinable » qui agit dans le phénomène de l'agglutination ; elle existe dans le microbe vivant ou mort comme dans un liquide filtré de culture ; elle siège dans la couche externe du microbe comme l'avait émis Gruber et soutenu Roger.

Widal et Sicard (4) ont recherché dans le sang et

(1) Dineur. — *Bull. de l'Ac. de méd. de Belgique* 1898.

(2) Defalle. — *Annales Inst. Pasteur*, 1902, p. 595.

(3) Nicolle. — *Annales Inst. Pasteur*, XII Mars 1898 p. 161.

(4) Widal et Sicard. — *Bull. de l'Ac. de méd.*, 29 septembre 1896.

les humeurs les substances douces de propriétés agglutinatives. Ils les retrouvent dans le lait, dans les larmes, dans la bile ; mais pas d'une manière constante. L'urine le plus souvent n'en possède pas la propriété. Le passage de cette substance agglutinante se fait même à travers le placenta avec transmission au fœtus ; Widal et Sicard (1), Achard (2), Achard et Bensaude (3) établissent ensuite que les substances agglutinantes existent dans le plasma du sang, qu'elles peuvent passer de là dans les divers liquides de l'organisme. Ces auteurs pensent que les leucocytes ne jouent aucun rôle dans ce phénomène. Widal démontre que la substance qui détient ce pouvoir agglutinatif est une substance albuminoïde, telle que le fibrinogène et la globuline. Widal en fait une réaction de la période d'infection. Courmont, du même avis, la considère encore comme une réaction de défense. Nicolle et Trenel (4), par la variabilité de l'aptitude agglutinative chez les différentes espèces microbiennes, démontrent que la mobilité joue un rôle important dans le phénomène. On pourrait faire deux catégories, disent-ils : l'une qui présente cette aptitude à un haut degré, ce sont les bacilles très mobiles (Eberth, coli-bacille, etc.), l'autre qui ne la présente que d'une façon faible, incertaine, presque nulle, ce sont les bacilles immo-

(1) Widal et Sicard. — Ac. de méd., 29 septembre 1896.

(2) Achard. — Soc. de biologie, 6 mars 1897, p. 255.

(3) Achard et Bensaude. — Arch. de méd. expér., nov. 1896, p. 78.

(4) Nicolle et Trenel. — Annales Inst. Pasteur, 1902, p. 562.

biles (tétanos, diphtérie, etc.). Ce qui semble encore le prouver, c'est que dans la tuberculose, mobilité et agglutinabilité vont de pair.

Nous n'entrerons pas dans les discussions qui suivent. Actuellement, la question n'est pas encore élucidée.

L'origine de l'agglutinine est encore discutée. Dans la théorie de l'immunité (1), nous savons qu'on fait entrer en jeu deux substances : l'une, l'alexine, qui joue le rôle d'une diastase et qui, pour Metchnikoff, est liée au globule blanc, décelable parce qu'elle perd son activité à 55°, l'autre sensibilisatrice (ambocepteur d'Erlich) qui résiste aux températures assez élevées, qui n'est pas bactéricide, qui se fixe sur les éléments, microbes, globules, qui est spécifique ; elle confère au sérum son pouvoir et c'est elle qui met en jeu l'alexine. Dans la théorie de l'agglutination, on a d'abord plus ou moins confondu l'agglutinine avec la sensibilisatrice, puis on a pu les dissocier. Bordet a montré qu'il y avait une distinction entre elles. L'agglutinine agit directement sans l'intermédiaire d'une alexine.

(1) Meillère et Georges. — Les Anticorps du sang, Tribune médicale, 1903, p. 149.

CHAPITRE III

LE SÉRO-DIAGNOSTIC DANS LES INFECTIONS AUTRES QUE LA FIÈVRE TYPHOÏDE

Widal, dans sa première communication à la Société médicale des hôpitaux en 1896, terminait par ces mots : « Cette méthode sera sans doute applicable à d'autres maladies, mais on peut déjà prévoir que peu de maladies s'y prêteront mieux que la fièvre typhoïde dont le microbe jouit d'une mobilité si grande, d'une vitalité si prolongée et trouble le bouillon d'une façon si uniforme ».

Au Congrès de Nancy (1) il rapporte les résultats obtenus dans les infections *coli-bacillaires*. Achard et Bensaude (2-3) établissent que le séro-diagnostic peut s'étendre au *choléra asiatique*. Lannelongue et Achard (4) étudient l'agglutination dans les infec-

(1) Widal. — Communication au Congrès de Nancy, 6 Août 1896 et Presse médicale, 8 Août 1896.

(2) Achard et Bensaude. — Presse méd., 26 Sept. 1896 et soc. méd. des Hôp. 23 Avril 1897.

(3) Bensaude, Paris 1897. — Naud, Editeur.

(4) Lannelongue et Achard. — C. R. Acad. des sc., 5 Oct. 96 p. 533.

tions par les bacilles du groupe *Proteus* ; ils peuvent ainsi, semble-t-il, différencier les bacilles de ceux de type très voisin. En inoculant, disent-ils, à un animal des types bacillaires distincts, l'animal acquiert la propriété d'agglutiner à la fois ces divers types.

Wright (1) pour la *fièvre de Malte*, Zabolotny (2) pour la peste, obtiennent des résultats positifs. Achard (3) avec du sérum recueilli chez des malades atteints de psittacose fait des essais d'agglutination sur le *bacille de Nocard* (bacille de la perruche, d'un type voisin au bacille d'Eberth) mais les résultats le laissent dans le doute et il ne peut en tirer de conclusion.

Des essais se poursuivent dans d'autres infections encore. Signalons seulement les travaux de Nicolas (4) sur la diphtérie. En 1896, M. Nicolas disait avoir obtenu l'agglutination du bacille de Loeffler avec du sérum de cheval immunisé ; avec le sérum d'enfants atteints de diphtérie, non encore inoculés, l'agglutination ne se produisait pas, mais elle était manifeste après que le malade avait reçu une injection de sérum anti-diphtérique. M. Nicolle (5) n'ayant, en 1898, jamais obtenu ce résultat dans des recherches analogues, M. Nicolas (6) reprend ses expériences avec plusieurs échantillons de bacilles diphtériques et

(1) Wright and Semple. *Brit. méd. journ.* 15 mai 1897.

(2) Zabolotny. — *Deutsche med. Wochenschr.* 10 juin 1897 p. 392.

(3) Achard et Bensaude. *Soc. méd. des hôp.* 27 novembre 1896.

(4) Nicolas. — *Soc. de biologie*, 25 juillet 1896 p. 817.

(5) Nicolle. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, mars 1898.

(6) Nicolas. — *Soc. de biologie*, 4 juin 1898.

avoue finalement que l'agglutination en effet est inconstante.

En 1898, Arloing (1) appliqua l'agglutination du *bacille de Koch* au séro-diagnostic de la tuberculose. Il put arriver, par une série de manipulations, à obtenir une culture liquide, homogène, en bouillon glyciné. Ces manipulations sont extrêmement longues ; il faut arriver à accoutumer le bacille au contact du liquide et pour le conserver homogène, il faut agiter les tubes de culture pendant des semaines plusieurs fois par jour. Arloing et Courmont (2) poursuivent leurs recherches. Rothamel (3) et Buard (4) y consacrent leurs thèses. En 1900 Arloing, et Courmont (5), dans une revue générale, admettent ce séro-diagnostic comme définitivement acquis. Et cependant, malgré l'intérêt capital qu'il y aurait à pouvoir faire un diagnostic précoce de tuberculose, cette méthode, qui aurait pu rendre de si grands services en clinique, n'est, pour ainsi dire, pas encore entrée dans son domaine. Ceci s'explique ; la technique est encore trop compliquée, trop délicate. En effet : obtenir une culture liquide homogène, avec un bacille immobile qui pousse sur des milieux solides, présente une grande difficulté, et la preuve en est dans

(1) Arloing. — C. R. Acad. des sciences, Paris, 9 mai 1898 et Congrès méd. int. Montpellier, 1898.

(2) Arloing et Courmont. — Acad. des sc., 19 Septembre 1898 et Congrès de la tuberculose, Paris 1898.

(3) Rothamel. — Thèse Bordeaux 1899.

(4) Buard. — Thèse Bordeaux 1900.

(5) Arloing et Courmont. Gazette des hôp. 1^{er} Décembre 1900.

le fait que les expérimentateurs, le plus souvent, ont été obligés d'avoir recours à la souche de bacilles d'Arloing. Hawthorn (1), en 1903, déclare la méthode délicate; on accuse les cultures de se laisser agglutiner, soit par du sérum d'individu sain, soit par le sérum de personnes ayant absorbé des médicaments tels que créosote, gaïacol, etc; mais l'agglutination n'est pas aussi complète et la comparaison entre ces cultures permet, dit-il, de trancher le diagnostic. Citons encore la thèse récente de Berthelon (2), qui admet la réaction en principe, mais qui prouve encore qu'on ne peut l'obtenir qu'avec une culture remplissant des conditions spéciales, culture difficile à obtenir et à conserver.

En 1900 paraît la thèse de Griffon (3) sur l'agglutination du *pneumocoque*. — Metchnikoff déjà, en 1891 (4), avait vu que le pneumocoque forme dans le sérum de lapin vacciné des paquets de longues chaînes. Widal au Congrès de Nancy avoue avoir fait des essais de séro-diagnostic sur le pneumocoque mais sans succès. Puis Besançon et Griffon (5) entreprennent une série de recherches. Dans sa thèse, M. Griffon aboutit à une conclusion nettement positive. L'agglutination se produit chez les

(1) Hawthorn. — Revue française de méd. et chir. 24 mars 1903.

(2) Berthelon. — Thèse de Lyon, Mars 1904.

(3) Griffon. — Thèse Paris, 1900.

(4) Metchnikoff. — Annales de l'Institut Pasteur, 1901, p. 374.

(5) Besançon et Griffon. — C. R. soc. de biologie, 5 juin et 19 juin 1897.

malades atteints de pneumonies, d'affections pneumococciques, même associées. La méthode de Widal extemporanée sur sérum dilué dans du bouillon n'est pas possible, le pouvoir agglutinatif n'étant pas suffisant. M. Griffon ensemence alors, avec une trace de culture de pneumocoque, le sérum humain retiré pour l'expérience et il met à l'étuve ; l'agglutination s'observe après 15 à 16 heures. C'est le procédé par culture en sérum humain. Le sérum, dit-il, ne doit pas être teinté par l'hémoglobine car le pneumocoque s'y développe volontiers, de par lui-même, en chaînettes. Si le pneumocoque a une disposition naturelle à se grouper en chaînettes, on peut la lui faire perdre par passage sur sérum de lapin.

Citons les essais de Leroux et Lorrain (1) qui, rapportant l'observation de plusieurs cas d'infections secondaires dans la fièvre typhoïde par un *diplocoque* spécial, obtinrent l'agglutination de ce microbe par le sérum correspondant. Ce diplocoque trouvé par eux dans le sang des malades se rapproche de l'entérocoque de Thiercelin et a une grande analogie avec le diplococcus hémophilus métadiphthérique décrit par Deguy et Legros.

M. Deguy ne pense pas que ce diplocoque puisse être identifié avec l'entérocoque de Thiercelin, et tend à faire rentrer ce diplocoque d'infections secondaires dans la classe du streptocoque. Ce point spé-

(1) Leroux et Lorrain. — Arch. de méd. expér. 1903, p. 613.

cial est du reste traité dans la thèse de Jouhaud (1) et dans celle de Trastour (2).

Après avoir donné un aperçu rapide de l'agglutination des microbes, nous allons faire l'historique complet de l'agglutination du streptocoque dans la *scarlatine*.

(1) Jouhaud. — Thèse de Paris, juin 1903.

(2) Trastour. — Thèse de Paris, 1904.

CHAPITRE IV

L'AGGLUTINATION DU STREPTOCOQUE EN PARTICULIER DANS LA SCARLATINE

1° Agglutination du streptocoque par du sérum d'animal immunisé

Bordet (1), en étudiant le sérum de cheval immunisé contre le streptocoque (sérum de Marmorek) fit des essais d'agglutination.

Les résultats ne furent pas nets et il conclut que le sérum anti-streptococcique ne présente vis-à-vis du streptocoque qu'un pouvoir agglutinatif faible.

Bensaude (2) entreprit des expériences sur l'agglutination du streptocoque par le sérum d'individus infectés par ce microbe : le sérum de ces malades, comme celui de 12 individus sains, est resté sans action, sauf dans 2 cas où l'agglutination s'est produite d'une façon absolument typique. Il emploie la méthode macroscopique de culture à l'étuve, vérifiée

(1) Bordet. — Annales de l'Inst. Pasteur, mars 1897, n° 3, P. 194.

(2) Bensaude. — Thèse Paris 1897, p. 209. Naud, éditeur.

au microscope. Des recherches avec le sérum d'animaux immunisés, il déduit que le sérum antistreptococcique de Marmorek a la propriété d'agglutiner les cultures de streptocoques, mais cette propriété existe aussi pour d'autres sérums de chevaux et tient plus à l'échantillon de streptocoque qu'au sérum employé.

Van der Velde(1), communiquant ses expériences sur le pouvoir du sérum anti-streptococcique sur les variétés de streptocoques, avait parfaitement bien décrit l'agglutination du streptocoque par le sérum d'animaux immunisés.

Il ajoutait à 50 parties de bouillon de culture une partie de sérum et, après 20 minutes à 37°, il voyait les microbes réunis en flocons tomber au fond du tube et y former rapidement un dépôt grumeleux. Il ajoute que le même sérum n'a pas d'action sur les autres variétés de streptocoques.

C'est là l'agglutination macroscopique par sérum d'animal vacciné pour une même variété de streptocoque.

Moser (2) qui a fait d'importants travaux sur la sérothérapie antiscarlatineuse, contrôle et confirme en 1899 les expériences de *Van der Velde*.

Aronson (3) en exaltant la virulence du streptocoque par passages à la souris, obtient un sérum d'animal immunisé qui agglutine toute espèce de streptocoque au 1/30 et au 1/40.

(1) *Van der Velde*. — Arch. de méd. expér. Paris 1897, p. 835.

(2) *Moser*. — Wiener Klin. Wochens, 1899, n° 5.

(3) *Aronson*. — Berl. Klin. Wochens. octobre 1902, n° 42 et 43.

Il n'emploie que la méthode macroscopique qui lui donne une agglutination typique.

Avec la méthode microscopique de Widal, il ne constate pas d'agglutination.

Meyer (1) se rapproche des résultats d'Aronson ; il emploie la même méthode macroscopique. Il conclut que le streptocoque est agglutiné par le sérum vaccin qui lui correspond, mais ce streptocoque seul l'est et non pas toutes les variétés comme l'avait prétendu M. Aronson. Grâce à cette méthode, dit-il, on peut différencier les streptocoques provenant d'angines, de ceux qui causent des infections pyogènes ; on peut même différencier les variétés d'entre ceux-là.

Moser et Pirquet (2) cherchent par leurs expériences d'agglutination à fournir un argument en faveur de la spécificité du streptocoque de la scarlatine.

Moser avait déjà montré que le sérum de cheval, immunisé par des injections de streptocoque pris dans le cœur des scarlatineux, exerçait une influence favorable sur l'évolution de la scarlatine. On n'avait cependant pas encore pu trouver un caractère différentiel net pour le streptocoque de la scarlatine. Leur technique présente quelques particularités : le principal but est d'obtenir une culture homogène. Ils prennent une culture de 24 heures en bouillon faiblement alcalin ; avec une pipette, ils soufflent longtemps

(1) Meyer. — Deutsche med. Wochens. 1902, n° 42, p. 751.

(2) P. Moser et C. v. Pirquet. — Centralblatt f. Bakt. I t. XXXIV n° 6, 12 Sept. 1903, p. 560.

de suite dans la culture, ce qui disloque les chaînes trop longues et ils obtiennent ainsi une culture troublée uniformément.

Ils avouent avoir une grande difficulté avec les échantillons qui poussent en déposant spontanément. Ils font le mélange de culture et de sérum dans une éprouvette et la laissent à la température de la chambre. Le résultat microscopique apparaît plus rapidement, disent-ils, que le dépôt macroscopique, et il est tout aussi typique. Le sérum de chevaux immunisés contre la scarlatine agglutinait au 1/1000 toutes les espèces de streptocoque de scarlatine, mais se montrait beaucoup moins agglutinant vis-à-vis de 17 échantillons de streptocoques non scarlatineux.

Hasenknopf et Salge (1), dans un travail sur l'agglutination du streptocoque de la scarlatine par le sérum de malades scarlatineux (travail dont nous reparlerons plus loin), font une étude sur l'agglutination de différentes variétés de streptocoques par différents sérums d'animaux immunisés, sérum de Moser, d'Aronson, etc.

Aronson (2) revient en 1903 sur ce qu'il avait déjà démontré et pense que la méthode macroscopique seule permet d'étudier l'agglutination d'un microbe immobile. Pour lui, il est impossible de différencier les streptocoques par l'immunisation à l'animal et par l'agglutination.

(1) Hasenknopf et Salge, *Jahrbuch f. Kinderheilk.* 1903 Bd 58.

(2) Aronson. — *Deutsche med. Wochenschr.* Juin 1903 n° 25.

2° Agglutination des streptocoques par le sérum de malades atteints d'infections streptococciques.

Nous avons signalé les recherches de *Bensaude*, dont les conclusions n'étaient pas en faveur de l'agglutination streptococcique spécifique.

Kraus et Low (1) firent les mêmes essais en comparant l'action du sérum de malades avec celui d'individus normaux. Ils terminent en disant qu'il n'y a que peu à attendre du séro-diagnostic dans les infections streptococciques.

3° Agglutination du streptocoque de la scarlatine par le sérum de scarlatineux

Baginsky et Sommerfeld (2) firent plusieurs essais d'agglutination du streptocoque de la scarlatine, par le sang de scarlatineux, pris du 21^{me} au 42^{me} jour de la maladie, sans avoir remarqué la moindre apparence d'agglutination même à la dilution de 1 pour 1. Le résultat est négatif.

Lingelsheim, cité par eux, aboutit au même résultat négatif.

Moser et Pirquet (3) dont nous avons déjà résumé la technique et qui obtenaient l'agglutination au 1/1000 avec du sérum d'animal immunisé, donnent le résul-

(1) *Kraus et Low*. — *Wiener Klin. Wochenschr.* 1899 n° 5.

(2) *Baginsky et Sommerfeld*. — *Berliner Klin. Wochens.* 1900: n° 27 p. 588 et n° 28 p. 618.

(3) *G. Moser et Pirquet*. — *Central bl. f. Bakt. I. t.* XXXIV n° 7 octobre 1903 p. 714.

tat suivant avec le sérum humain de scarlatineux : positif 54 fois sur cent, négatif 46 fois, l'agglutination étant plus fréquente dans les cas graves. Avec le sérum de malades non scarlatineux, le résultat est positif 11 fois sur 100. Ces résultats variables, nous semble-t-il, enlèvent à cette méthode sa valeur spécifique.

Hasenknopf et Salge (1) avec une technique longue et compliquée disent avoir des résultats positifs constants. Voici leurs conclusions :

Le sérum d'un scarlatineux pris du 3^{me} au 25^{me} jour de la maladie agglutine toujours les streptocoques provenant d'un scarlatineux, souvent même au 1/500. Les autres streptocoques non scarlatineux ne sont pas agglutinés par le sérum de scarlatineux. Les autres sérums d'individus n'ayant pas eu la scarlatine n'agglutinent pas le streptocoque de la scarlatine. Les auteurs ne pensent pas que l'agglutination suffise pour soutenir la spécificité du streptocoque dans la scarlatine, car il est facile en clinique de se rendre compte de son rôle d'infection secondaire. Les résultats contraires de Baginsky et de Moser tiennent à la technique, disent-ils, et ils donnent la leur en détail : ils prennent le streptocoque dans la gorge, ou de préférence dans la rate peu après la mort ; ils trouvent toujours le streptocoque pur dans la rate des scarlatineux ; dans le sang chez le vivant, on ne le trouve qu'exceptionnellement. Avec la culture pure

(1) *Hasenknopf et Salge*. — *Jahrb. f. Kinderheilk.* 1903, vol. VIII p. 218.

sur agar, on ensemence des tubes de bouillon. On centrifuge ensuite le bouillon de culture, on lave le culot avec une solution salée et phéniquée à 0,5 % ; on centrifuge à nouveau. On porte le culot dans un mortier en agate et on le broie avec 1 cent. cube de lessive de soude au 1/50 pour disjoindre les amas. Puis on ajoute au mélange une solution d'acide chlorhydrique au 1/100 jusqu'à réaction alcaline faible ; on le dilue ensuite dans du sérum physiologique phéniqué et on obtient une émulsion subtile qui servira aux expériences. Les auteurs cherchent l'agglutination par la réaction macroscopique habituelle, en laissant le mélange d'émulsion et de sérum 24 heures à l'étuve ; ils vérifient le résultat au microscope.

Nous ajoutons à l'historique 3 publications nouvelles, parues alors que nos expériences étaient déjà terminées depuis un certain temps et ce mémoire presque entièrement rédigé.

La première de *George Weaver* (1). Il conclut que la spécificité du streptocoque dans la scarlatine n'est pas démontrée et ne peut donc être d'aucune utilité pour le séro-diagnostic de la scarlatine.

Zelensky (2) fait des expériences complètes ; il critique les méthodes. Il dit que souvent l'agglutination se produit d'elle-même par un dépôt général du bouillon. Que la difficulté vient de l'immobilité du streptocoque. Que même après avoir soufflé avec une

(1) G. Weaver. — Journ. of. inf. Dis. t. I. 2 janv. 1904, p. 91.

(2) Zelensky. — Wiener Klin. Wochens., 14 avril 1904, n° 15, p. 406.

pipette, suivant la méthode de Moser, il peut y avoir un dépôt spontané au bout d'un certain temps. Pour obtenir une émulsion homogène de streptocoque, il dilue les colonies qui ont poussé sur agar dans de l'eau salée à 7 p. 1000. Il trouve cette émulsion « idéale », les chaînes développées sur agar sont plus courtes et par conséquent le mouvement moléculaire plus grand. Il fait toujours l'épreuve microscopique, la méthode macroscopique donnant lieu à erreur. L'agglutination se produit au bout de 10 à 20 minutes ou beaucoup après. Il a constaté incontestablement que le sérum d'individus sains agglutine souvent le streptocoque de la scarlatine, parfois à un taux élevé, au 1/250 même; ces sérums provenaient d'enfants n'ayant jamais été atteints de scarlatine ou même d'autres infections à streptocoques. Le sérum des sujets atteints de scarlatine ou d'infections streptococciques se montrait tantôt agglutinant, tantôt sans action envers le streptocoque d'origine homologue. Il conclut que la méthode de l'agglutination du streptocoque est trompeuse dans ses résultats.

Dopter (1), au Val-de-Grâce, fait des expériences de contrôle sur les faits rapportés par Hasenknopf et Salge. Il aboutit à ces conclusions, qu'un streptocoque de scarlatineux est habituellement agglutiné au 1/20 ou 1/100 environ par le sérum du malade chez qui on l'a retiré. Qu'un sérum de scarlatineux

(1) *Dopter*. — C. R. Soc. de biologie, 20 mai 1904, n° 17, p. 787.

agglutine 12 échantillons sur 20 de streptocoque de scarlatine mais qu'il possède la même action sur des streptocoques provenant d'autres infections. Que le sérum venant de malades n'ayant jamais eu la scarlatine agglutine certains échantillons de streptocoques de scarlatine.

Le rôle joué par le streptocoque dans la scarlatine n'est donc toujours qu'un rôle d'agent d'association secondaire. Nous regrettons que M. Dopter ne décrive pas la technique qu'il a employée.

M. E. Detot vient de communiquer une note à la Société de biologie sur ce travail que nous avons fait en collaboration. Cette note paraîtra dans les comptes rendus de la société de biologie du 2 juillet 1904.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

CHAPITRE I. — TECHNIQUE

La recherche d'un séro-diagnostic dans la scarlatine présente une double difficulté : la première inhérente à la *spécificité* même du streptocoque, la deuxième rattachée à la *méthode* de l'agglutination du streptocoque.

La présence des streptocoques dans le mucus pharyngé, dans le sang et dans les organes de malades atteints de scarlatine, ne fait de doute pour personne. Klein, en 1885, puis plusieurs auteurs anglais et allemands décrivent le streptocoque qu'ils ont trouvé et qu'ils croient être spécifique. En 1892, d'Espine et Marignac différencient un streptocoque provenant d'un malade atteint de scarlatine, des autres variétés, par sa propriété particulière de coaguler le lait. Par ensemencement de la gorge, le streptocoque se rencontre dans presque tous les cas de scarlatine. Moser, puis Baginsky disent le trouver dans le sang des scarlatineux recueilli après la mor-

d'une façon constante. Hasenknopf le trouve, sans exception, dans les organes, dans le cœur et surtout dans la rate, à l'état pur si on a la précaution d'opérer peu de temps après la mort.

Sa présence est donc constante, reste à savoir le rôle joué par ce streptocoque dans la scarlatine. Cette question de la spécificité du streptocoque a donné lieu à de nombreuses discussions ; actuellement, elle n'est pas encore tranchée. Elle se rattache, du reste, à la question de l'unité du streptocoque sur laquelle l'accord n'est pas encore fait : Marmorek et d'autres pensent que tous les streptocoques venant de l'homme appartiennent à la même espèce, que les différences extérieures ne sont pas suffisantes à les différencier, d'autres bactériologistes admettent des variétés de streptocoques, mais n'ont pas trouvé encore le moyen de les différencier.

Le rôle du streptocoque dans la scarlatine est, pour Heubner, celui d'une infection secondaire.

Baginsky lui attribue un rôle pathogène mais croit que, sans être la cause de la maladie, il est en relation intime avec elle.

Moser le considère comme spécifique jusqu'à preuve du contraire, car, dit-il, il obtient avec ce streptocoque un sérum anti-scarlatineux.

Nous ne cherchons pas à résoudre ce problème de la spécificité du streptocoque dans la scarlatine; nous avons systématiquement laissé de côté cette question, cependant nous pensons que, par l'agglutina-

tion, qui est une réaction spécifique, elle sera grandement simplifiée.

I. — Recherche du streptocoque

La plupart des échantillons de streptocoques de scarlatine, dont nous nous sommes servi, proviennent de culture de la gorge. Il suffit, chez un malade atteint de scarlatine, de préférence pendant les premiers jours de la maladie, alors que l'angine scarlatineuse est à son maximum, de râcler légèrement avec une spatule en platine les amygdales et les cryptes amygdaliennes et d'ensemencer sur un tube de gélose le mucus qui adhère à la spatule. Après 24 heures à l'étuve, on voit de nombreuses colonies, parmi lesquelles se trouvent le plus souvent du staphylocoque, des bactéries, etc., et du streptocoque. Pour isoler ce streptocoque, on peut repiquer une de ces colonies de streptocoque sur gélose et par repiquages successifs sur gélose arriver à n'avoir plus que du streptocoque pur, mais il est plus facile et plus rapide d'ensemencer cette colonie du premier tube de gélose, en bouillon. Le streptocoque se développe en bouillon plus rapidement que les autres microbes ; après 4 à 5 heures d'étuve, on le trouve développé lui seul et par repiquages successifs en bouillon, après 4 heures d'étuve, on l'obtient rapidement pur.

Dans la gorge, on peut rencontrer différentes variétés morphologiques ; le streptocoque 11 nous

montre trois variétés dont nous donnerons les caractères — (nous ne parlons ici que de caractères différentiels extérieurs, sans entrer dans la question de l'unité du streptocoque).

Nous avons fait plusieurs essais d'ensemencement de sang recueilli dans des cas de scarlatine, les tubes de gélose sont restés stériles. Hasenknopf avoue n'avoir obtenu le streptocoque par culture de sang pris chez le vivant qu'exceptionnellement; le plus souvent, les cultures étaient stériles.

Nous n'avons eu l'occasion de le retirer qu'une fois de la rate, nous l'y avons trouvé abondant, mais la culture était envahie par le coli-bacille. Nous n'avons pu opérer que 24 heures après la mort, à l'autopsie; avec une pipette en verre enfoncée en pleine rate, nous avons retiré quelques gouttes de sang, ensemencé ensuite sur gélose et en bouillon. Il faudrait, pour obtenir le streptocoque pur, faire une ponction de la rate ou dans le cœur à travers les téguments cautérisés et le faire dans les premières heures qui suivent la mort.

On peut retirer le streptocoque, à l'état pur, des foyers de suppuration qui surviennent fréquemment dans les infections scarlatineuses. Nous l'avons cherché dans un cas d'otite scarlatineuse, mais le pus recueilli ne nous a donné que du staphylocoque.

La culture pure du streptocoque une fois obtenue, quel est le meilleur milieu de culture à employer?

C'est un point important de technique puisqu'il est nécessaire d'avoir des cultures abondantes, viva-

ces, et qui poussent en trouble homogène. Les auteurs sont d'accord sur l'emploi du bouillon ordinaire faiblement alcalin.

Voici le mode de préparation du bouillon dont nous nous sommes servi : Dans un litre d'eau distillée, on fait macérer, durant 24 heures, 500 gr. de viande de bœuf hachée et privée de tendons, d'aponévroses et de graisse. Puis on passe à travers un linge fin. A cette macération, on ajoute 500 grammes de viande de cheval défibriné (hémoglobuline), 5 grammes de sel de cuisine, 10 grammes de peptone. On chauffe à petit feu le mélange, on l'agite constamment, on prolonge l'ébullition pendant 5 minutes et on filtre sur papier Laurent. Le bouillon ainsi obtenu est alcalinisé avec la lessive de soude comme le bouillon ordinaire. On le stérilise à l'autoclave à 120° pendant un quart d'heure, on filtre de nouveau à froid sur papier Laurent et on le distribue dans les tubes qui demeurent à l'autoclave pendant un quart d'heure, à la température de 115 à 118°.

Rappelons qu'il faut repiquer le streptocoque tous les quatre ou cinq jours en bouillon neuf, car il dépérit assez rapidement dans un tube de culture et meurt au bout de 5 à 10 jours.

2. — Recherche du sérum

Pour la méthode immédiate de Widal, il suffit d'avoir quelques gouttes de sérum et il est inutile de le recueillir aseptiquement. On peut donc se servir du sang contenu dans une ventouse scarifiée et qu'on laisse déposer le temps nécessaire à la formation du caillot. On aspire ensuite le sérum dans une pipette de verre. Il est encore plus simple de faire une piqûre au bout du doigt avec une épingle ou une lancette et

d'aspirer dans une pipette les quelques gouttes de sang qui s'écoulent ; au bout de peu de temps, le caillot se dépose à l'extrémité de la pipette, on le chasse en soufflant légèrement et on verse les gouttes de sérum dans le verre de montre à expérience.

Quand il s'agit d'une recherche par ensemencement du streptocoque dans du sérum ajouté au bouillon ou même dans du sérum pur, il faut obtenir un sérum aseptique et en plus grande quantité. Le meilleur procédé consiste alors à retirer le sang, de un à quatre centimètres cubes, directement d'une veine et de le laisser déposer ensuite.

C'est ce procédé que nous avons employé le plus souvent. Avec tous les soins antiseptiques, brossage au savon, lavage au sublimé, à l'alcool, à l'éther, un lien étant placé au-dessus de la veine, nous ponctionnons la veine, de préférence la médiane céphalique au coude ; chez les enfants très jeunes et gras, la pédieuse ou la saphène sus-malléolaire. Il suffit, le plus souvent, d'enfoncer l'aiguille dans la veine, le sang s'écoule et il est recueilli dans un tube de verre stérilisé. Si la quantité de sang qui s'écoule n'est pas suffisante, nous aspirons le sang avec la petite seringue en verre de Lür.

Pour obtenir le sérum, nous laissons déposer le tube de sang incliné dans un endroit frais ; le lendemain, le caillot s'est rétracté et on retire le sérum avec une pipette en verre. Si on a soin de ne prendre que la couche superficielle du sérum, il est presque

toujours pur et clair. S'il est légèrement teinté, il suffit de le laisser déposer à nouveau, puis de le décaper ou bien de le centrifuger.

Nous préférons ce procédé simple, à la centrifugation immédiate du sang ou aux méthodes de défibrination.

Le sérum, comme le dit Hasenknopf, doit être retiré du troisième au vingt-cinquième jour de la maladie, le plus volontiers dans les 10 premiers jours.

3. — Méthodes d'agglutination

Dans la recherche de l'agglutination, la technique est d'une importance capitale. C'est de la méthode employée que dépend, le plus souvent, le résultat. Il est donc nécessaire de décrire les méthodes dans tous leurs détails.

Dans l'agglutination du streptocoque, nous avons à expérimenter sur un microbe immobile, tout au moins très peu mobile, peu vivace puisqu'il dépérit rapidement dans une culture, et qui ne trouble pas toujours le bouillon d'une façon uniforme. C'est là une grande difficulté, et c'est contre cette difficulté qu'ont porté les efforts de ceux qui ont entrepris des recherches analogues. Le streptocoque a une tendance naturelle à tomber en dépôt dans une culture liquide, ses éléments se groupent volontiers de par eux-mêmes en petits amas. Plus les chaînes de strepto-

coques sont longues, plus cette tendance se remarque.

Les cultures uniformément troubles sont formées de chaînettes courtes et de diplocoques.

Par repiquages successifs de cultures jeunes, de cinq à six heures, on arrive peu à peu à modifier la culture et à la rendre plus homogène ; mais tous les échantillons ne se prêtent pas à cette manœuvre ; c'est ce procédé auquel nous nous sommes arrêté avec M. Detot.

Nous avons essayé d'agiter fréquemment les cultures en bouillon, suivant la méthode d'Arloing ; nous les avons agitées par des insufflations fréquentes à la pipette ; le résultat n'a pas été meilleur.

La première condition pour expérimenter est donc d'avoir une culture abondante, vivace, homogène.

1^{re} MÉTHODE

Méthode extemporanée, microscopique de Widal

Nous prenons une culture en bouillon de streptocoque ; il faut qu'elle soit bien développée, vivace, homogène ; ces qualités se présentent au maximum avec une culture jeune de 4 à 5 heures.

Nous versons, dans un verre de montre, quelques gouttes de cette culture ; elle sert de témoin. Examiné au microscope, le streptocoque doit se présenter sous forme de chaînes, de chaînettes ou d'éléments isolés, flottant librement dans le liquide.

Il est inutile de fixer et de colorer la préparation ; il suffit de déposer entre lame et lamelle une goutte de culture et d'examiner à l'objectif à immersion.

Avec un peu d'habitude, on distingue facilement le microbe, en fermant légèrement le diaphragme, les cocci ressortent encore mieux sur le fond transparent. Dans un second verre de montre nous ajoutons à un nombre connu de gouttes de la même culture, le nombre voulu de gouttes du sérum pour le taux recherché et nous examinons au microscope toutes les 5 ou 10 minutes, pendant une heure et plus. Lorsque l'agglutination se produit on voit au bout d'un certain temps les chaînes de streptocoque se replier sur elles-mêmes en spirale, se réunir en petits groupes, entrelacées, puis les chaînes accolées forment peloton de ficelle. Lorsque le phénomène est plus actif, les amas se forment, ce sont des réunions de cocci en grappe, les grains accolés les uns aux autres ; ces amas peuvent être formés de 5 à 10 éléments ou former une agglomération d'une centaine de grains accolés. — Ces dispositions se retrouvent sur une préparation colorée au violet de gentiane, mais les amas peuvent être en partie détruits par le fixage et le phénomène est moins net.

Il arrive quelquefois que de certains échantillons de streptocoque présentent spontanément de petits amas ou des réunions de chaînes en petits groupes ; il faut alors déterminer le résultat par une comparaison qui reste elle-même parfois alors douteuse.

Il est bon de prendre plusieurs verres de montre pour faire cette réaction à des dilutions différentes et pour rechercher le pouvoir agglutinatif du sérum.

Il faut aussi comparer le sérum à expérimenter à un autre sérum d'individu sain et normal.

2^e MÉTHODE

Méthode macroscopique (Charrin et Roger, Vidal)

A un tube de culture de streptocoque en bouillon, culture abondante, vivace, homogène, nous ajoutons le sérum à la dilution voulue ($1/1$; $1/5$; $1/10$; $1/25$; $1/50$). Nous laissons reposer le tube soit à la température du laboratoire, soit mieux, à l'étuve. Après 24 heures, nous comparons ce tube à un tube témoin.

Lorsque l'agglutination se produit, on aperçoit, dans le tube qui était primitivement d'un trouble uniforme, de légers flocons qui vont en s'épaississant, ces flocons tombent peu à peu au fond du tube. L'agglutination une fois produite, le bouillon doit être clair, les microbes forment un dépôt plus ou moins abondant, cupuliforme, au fond du tube.

En agitant légèrement le tube, le dépôt se soulève en flocons épais membraniformes ou en grumeaux compacts, qui se désagrègent difficilement et qui flottent dans le liquide clair. Par une agitation trop forte, le tube redevient d'un trouble uniforme. En laissant déposer à nouveau 24 heures, l'agglutination se reproduit, mais moins nette que la première fois. Il faut avoir plusieurs tubes à des dilutions différentes et il est nécessaire de comparer l'action du sérum en expérience à celle d'un sérum autre. Comme pour la réaction microscopique, le résultat doit être comparatif.

Il arrive cependant que de certains échantillons de streptocoque déposent spontanément au bout d'un certain temps, le tube témoin peut alors s'être éclairci avec dépôt; c'est là une grande difficulté qui rend les résultats douteux, même par comparaison. C'est pour parer à cet inconvénient que les expérimentateurs ont cherché le moyen d'obtenir des émulsions homogènes.

3^e MÉTHODE

Nous ensemençons le streptocoque de 2 à 5 gouttes d'une culture vivace, dans du bouillon auquel nous avons préalablement ajouté le sérum. Un tube témoin, ensemencé sans sérum, sert de comparaison. Nous mettons ces tubes à l'étuve. Après 24 heures, le microbe s'est développé. Le résultat macroscopique, s'il est positif, se montre avec une grande netteté, mieux encore que par la méthode précédente.

Les détails et l'observation du résultat se font de la manière que nous avons indiquée dans la méthode précédente.

4^e MÉTHODE.

Prendre un tube de streptocoque sur gélose bien développé et délayer les colonies, avec un fil de platine, dans de l'eau, ou mieux dans du sérum physiologique (eau salée à 7 p. 1000). On obtient une émulsion sur laquelle on fait agir le sérum, à la température du laboratoire.

5^e MÉTHODE

Ensemencement de streptocoques dans des tubes effilés contenant moitié bouillon, moitié eau salée,

a 7 p. 1000, additionné du sérum et mis à l'étuve pendant 24 heures.

6^e MÉTHODE

Ensemencement du streptocoque dans le sérum pur, mis à l'étuve: Examen après 4 heures, puis après 24 heures. C'est la méthode de Griffon décrite pour l'agglutination du pneumocoque.

7^e MÉTHODE

Méthode de Hasenknopf et Salge simplifiée

Il faut centrifuger une culture en bouillon de streptocoques, laver le culot après décapage, avec de l'eau stérilisée, centrifuger à nouveau, décaper et délayer le culot dans de l'eau, ou mieux dans du sérum physiologique. On se sert de cette émulsion pour expérimenter de la même manière qu'avec un bouillon de culture.

8^e MÉTHODE

Méthode de Hasenknopf et Salge

On prend quelques centimètres cubes d'une culture de streptocoque de scarlatine, en bouillon faiblement alcalin. On centrifuge. On lave le culot, après décapage, avec une solution de sérum phéniqué (eau + chlorure de sodium 8, 5 ‰ + acide phénique 5 ‰). On centrifuge à nouveau. On décape. On recueille le culot, bien propre et blanc, formé de la masse des streptocoques, dans un centimètre cube de lessive de soude au 1/50 et avec une pipette on

souffle pour désagréger les amas (Hasenknopf porte le culot dans un mortier en agate avec la lessive de soude et le broie avec un pilon). Nous avons fait aussi un essai de broyage dans un verre de montre avec une baguette de verre. On ajoute ensuite prudemment, une solution d'acide chlorhydrique au 1/100, jusqu'à réaction alcaline faible au papier de tournesol, puis on dilue dans quelques centimètres cubes de sérum phéniqué et on obtient une émulsion de streptocoque sur laquelle on opérera la recherche de l'agglutination par la méthode macroscopique ou microscopique. Les tubes additionnés du sérum sont placés à l'étuve pendant 24 heures.

Avec cette même émulsion, nous faisons l'essai d'agglutination immédiate, examinant au microscope de 5 minutes à 1 heure après, directement ou en préparation colorée, le mélange d'émulsion et de sérum.

CHAPITRE II

TABLEAU DES EXPÉRIENCES

Avant d'indiquer les expériences, nous donnons la provenance et les particularités de chaque streptocoque et de chaque sérum, qui porteront un numéro. Dans la lecture des expériences, il n'y aura qu'à se reporter à ce tableau :

1^o STREPTOCOQUES

a) Streptocoques provenant de scarlatineux

Streptocoque 1. — Retiré de la gorge dans un cas de scarlatine normale. En très longues chaînes. Pousse surtout en anaérobie, dans du bouillon recouvert d'une couche d'huile.

Streptocoque 2. — Retiré par culture du mucus pharyngé chez une enfant J. M. au septième jour d'une scarlatine franche avec angine érythémateuse simple. Pousse abondamment et homogène.

Injecté à un lapin, 2 cent. cubes de bouillon de culture restent sans effet. Une deuxième injection, un mois après, amène la mort du cobaye au bout de 11 jours.

Streptocoque 3. — Vient d'un enfant de 8 ans 1/2 atteint d'une scarlatine franche, sans angine, au 3^e jour.

Streptocoque 4. — Enfant de 10 ans. F. P. Scarlatine franche au 9^e jour.

Ce streptocoque retiré de la gorge pousse difficilement et tombe rapidement en dépôt au fond du tube.

Streptocoque 5. — G. P. 10 ans. Scarlatine franche au deuxième jour avec angine lacunaire. Culture de la gorge.

Difficilement isolé, ce streptocoque pousse en courtes chaînettes et en diplocoque.

Streptocoque 6. — B. L. Scarlatine franche au cinquième jour avec angine à exsudat léger; donne par ensemencement de la gorge une culture abondante de streptocoque en longues chaînes. Nous avons essayé, suivant la méthode de d'Espine (1) de l'ensemencer dans du lait pour le différencier d'autres streptocoques d'érysipèle, etc., mais sans résultat. D'Espine donnait comme caractère différentiel du streptocoque de la scarlatine la propriété qu'il aurait de coaguler le lait et de le séparer en deux couches, l'une solide et l'autre liquide.

Streptocoque 7. — D. G., 21 mois, morte de broncho-pneumonie au dixième jour d'une scarlatine. Nous recueillons aseptiquement du sang pris dans la rate, enlevée à l'autopsie 24 heures après la mort; ce sang donne une culture de streptocoque en chaînettes courtes et moyennes, envahie par le coli-bacille.

Streptocoque 8. — L. J., 8 ans. Scarlatine franche au troisième jour; par la culture du mucus pharyngé, nous isolons un streptocoque extrêmement fin, en longues chaînes, qui pousse avec dépôt spontané dans du bouillon.

Streptocoque 9. — Scarlatine au deuxième jour, culture de la gorge. Ce streptocoque se présente le plus souvent en diplocoque et en courtes chaînettes en bouillon. La culture est homogène.

(1) D'Espine et Marignac. — Archives de méd. expér. 1^{er} juillet 1892, n° 4.

Streptocoque 10. — O. R., 7 ans, scarlatine au dix-septième jour avec angine érythémateuse. Nous retirons un streptocoque en courtes et fines chaînettes.

Streptocoque 11. — B. M., 5 ans. Scarlatine franche avec angine scarlatineuse. Par ensemencement du mucus pharyngé nous arrivons à isoler trois variétés de streptocoques.

Streptocoque 11 a. — Sur gélose donne des colonies extrêmement fines, en poussière. Les chaînes assez longues sont composées d'éléments tout petits.

Streptocoque 11 b. — Les colonies de la grosseur d'une pointe d'épingle sont isolées les unes des autres. Les chaînes sont très longues et à gros éléments.

Streptocoque 11 c. — Sur gélose, les colonies sont grosses, jaunâtres; en bouillon se présente surtout en diplocoques ou courtes chaînettes.

b) Streptocoques d'infections non scarlatineuses

Streptocoque I (mastôidite). — Provenant du pus retiré au cours d'une opération de mastôidite. Donne des chaînes longues. Dans du bouillon pousse en flocons qui tombent rapidement et spontanément au fond du tube.

Streptocoque II (Angine de Vincent) — Retiré de la gorge dans un cas d'angine de Vincent ulcéro-membraneuse. Se développe le mieux en anaérobie. Les colonies sont épaisses gris blanchâtre. En bouillon, il se forme un dépôt en fausse membrane qui, par agitation du tube, flotte en tourbillon et se désagrège difficilement. Au microscope se voit surtout en diplocoque mais aussi en courtes chaînettes.

Streptocoque III (pleurésie purulente). — Retiré du pus recueilli au cours d'une thoracenthèse pour pleurésie purulente chez un enfant atteint de croup et d'angine diphthérique, mort après son opération de complications septicémiques.

Ce streptocoque se présente en chaînes assez longues à grains moyens.

Streptocoque IV (érysipèle). — R. A., érysipèle de la face au troisième jour, pas de streptocoque par ensemencement de la gorge. Par ponction d'une phlyctène d'érysipèle, nous retirons un streptocoque qui se présente en diplocoque, en éléments isolés ou en courtes chaînes.

Streptocoque V (diphthérie maligne). — L. R., 6 ans $1\frac{1}{2}$, diphthérie maligne, forme septicémique, mort au septième jour de la maladie. On retire aseptiquement le sang du cœur; ensemencé sur gélose, il donne de nombreuses colonies, petites, arrondies, surélevées, d'un streptocoque pur qui se présente en diplocoques, en courtes chaînettes et pousse abondamment et homogène en bouillon.

Streptocoque VI (phlegmon du bras). — Provenant d'un phlegmon du bras. En petites colonies très fines, grisâtres, rondes; chaînes à gros éléments.

Streptocoque VII (érysipèle). — Retiré d'un érysipèle de la face.

Streptocoque à gros éléments.

Streptocoque VIII (mastoïdite). — Provenant du pus retiré dans le cours d'une opération de mastoïdite.

Se présente en longues chaînes.

Streptocoque IX (érysipèle). — Culture du liquide provenant d'une phlyctène d'un érysipèle de la face au 8^e jour. Aspect staphylococcique avec courtes chaînettes.

Streptocoque X (phlegmon de la cuisse). — Retiré dans le cours d'une opération pour phlegmon de la cuisse. Donne des cocci isolés et de courtes chaînes à gros éléments.

2° SÉRUMS

a) SÉRUMS RECUEILLIS CHEZ DES MALADES ATTEINTS DE SCARLATINE

Sérum A. — Sérum retiré par ponction d'une veine du pli

du coude chez une enfant J. M., atteinte de scarlatine franche au 7^e jour, la même malade qui a fourni le streptocoque 2.

Sérum B. — Scarlatine au 10^e jour, même malade qui a fourni le streptocoque 3. Ponction veine du pli du coude 2 c. c.

Sérum C. — Scarlatine au 20^e jour et diphtérie. 2 c. c. retirés dans une veine du bras. Ce sérum reste légèrement teinté.

Sérum D. — Scarlatine au 13^e jour. Par ponction d'une veine du pli du coude, donne 2 c. c. de sérum clair.

Sérum H. — Scarlatine grave au 7^e jour. Prise de sang à la face dorsale du pied, nous ne retirons que peu de sérum.

Sérum L. — Scarlatine légère au 5^e jour. Nous retirons 4 c. c. de sang par ponction d'une veine du pli du coude, le sérum reste teinté. Pris chez le même malade que le streptocoque 6.

Sérum O. — Scarlatine au 10^e jour. Nous retirons un demi c. c. par ponction veine du bras.

Sérum P. — Scarlatine au 14^e jour, 3 c. c. pris au pli du coude.

Sérum T. — Scarlatine au 10^e jour. Prise de sang au pli du coude, donne 2 c. c. de sérum.

Sérum V. — Scarlatine au 14^e jour. Recueilli dans une veine du pli du coude chez le même malade qui a donné les 3 variétés de streptocoque 11.

b) Sérums recueillis chez des individus normaux et chez des malades atteints de maladies autres que la scarlatine

Sérum E (Érythème scarlatiniforme). — P. M. atteint de diphtérie, pris au cours de sa convalescence d'un érythème

scarlatiniforme net. Le lendemain, nous retirons d'une veine du pli du coude 2 c. c. de sang dont le sérum reste teinté en rose.

Sérum G (Erythème scarlatiniforme). — Diphtérie, puis 3 jours après, érythème scarlatiniforme ; on retire le lendemain, d'une veine du pied, 1 c. c. de sang.

Sérum K (Erysipèle). — Erysipèle au 3^e jour. Prise de sang dans une veine du pli du coude, 1 c. c.

Sérum Q (Diphtérie maligne). — Diphtérie maligne. Ce sérum provient du sang du cœur recueilli 2 heures après la mort. En culture a donné le streptocoque V.

Sérum R (Erythème scarlatiniforme). — Diphtérie et érythème scarlatiniforme léger, fugace ; pas de scarlatine antérieure. On retire 4 c. c. d'une veine.

Sérum U (diphtérie). — Angine diphtérique à bacilles moyens. Nous retirons 3 c. c. de sérum d'une veine du bras.

Sérum F (normal). — Nous retirons à un enfant normal n'ayant jamais eu la scarlatine, un demi c. c. de sang par piqûre au bout du doigt.

Sérum I (normal). — Enfant atteint de psoriasis, n'ayant jamais eu la scarlatine. Par ponction d'une veine, nous obtenons 6 c. c. de sang, dont le sérum est clair.

Sérum M (normal). — Enfant soigné pour constipation, n'ayant jamais eu la scarlatine. Ponction d'une veine au pli du coude qui donne 4 c. c. de sang.

Sérum S (normal). — Enfant atteint d'eczéma, n'ayant jamais eu la scarlatine. Le sérum est retiré de ventouses scarifiées, posées aseptiquement.

Sérum N (lapin immunisé). — Lapin ayant reçu une injection de 2 c. c. de culture du streptocoque 2. Nous retirons 4 c. c. de sang en ponctionnant une veine de l'oreille.

3° EXPÉRIENCES

A) AGGLUTINATION DU STREPTOCOQUE DE LA SCARLATINE

a) Par la méthode immédiate microscopique de Widal

EXPÉRIENCE I

A un tube contenant 40 gouttes de culture ancienne en bouillon de streptocoque 1 (scarlatine), on ajoute 10 gouttes de sérum C (scarlatine).

On examine au microscope à l'immersion, en déposant une goutte du mélange entre lame et lamelle. Les examens sont faits successivement après 5 minutes, 10 minutes, 1/2 heure, 1 heure et le lendemain.

Les chaînes de streptocoque restent isolées, sans tendance à se réunir.

Le lendemain, le tube est resté uniformément trouble sans dépôt et au microscope les chaînes ne sont pas réunies en amas.

Essai d'agglutination du streptocoque de scarlatine par du sérum de scarlatineux au 1/4, par la méthode d'examen microscopique immédiat. Résultat négatif.

EXPÉRIENCE II

A une culture de 5 heures du streptocoque 2 (scarlatine), on ajoute quantité égale de sérum A (scarlatine, même malade). L'examen de la culture fraîche avait montré de petites chaînes isolées. Après 10 minutes, puis à d'autres examens successifs, on voit au microscope quelques petits amas de streptocoques,

quelques chaînes enroulées en spirales et reliées sur elles-mêmes et d'autres fibres, isolées.

Même essai que pour l'expérience I, mais avec une culture jeune, au 1/1, le sérum provenant du même malade que le streptocoque.

Résultat douteux.

EXPÉRIENCE III

Dans un verre de montre, on ajoute à 10 gouttes de culture de streptocoque 3 (scarlatine) 1 goutte sérum B (scarlatine même malade). Les examens microscopiques faits après 5 minutes, 10 minutes, puis successivement jusqu'à 1 heure après, ne montrent pas de gros amas ; on voit des chaînettes nombreuses, isolées, quelques-unes paraissent repliées sur elles-mêmes.

Essai d'agglutination par la méthode microscopique immédiate, méthode courante de Widal, au 1/10, sérum et streptocoque du même malade scarlatineux.

Résultat négatif.

EXPÉRIENCE IV

Verre de montre 1 = 5 gouttes streptocoque 6 (scarlatine).
+ 5 gouttes sérum L (scarl. même malade).
Verre de montre 2 = 5 gouttes streptocoque 6 (scarlatine).
+ 5 gouttes sérum M (normal).

On examine au microscope de 5 en 5 minutes, comme pour la méthode courante de Widal dans la fièvre typhoïde.

Les chaînes restent isolées les unes des autres aussi bien dans le verre de montre 1 que 2 ; dans les examens successifs on ne trouve que quelques chaînes enroulées sur elles-mêmes ; dans le verre de montre 2, un ou deux amas de 5 à 6 éléments.

Recherche par la méthode de Widal microscopique, immédiate, pour le streptocoque de scarlatine avec du sérum du même malade à 1/1. L'agglutination est négative.

b) **Méthode par addition de sérum à une culture en bouillon développée, laissée ensuite à reposer pendant 24 heures**

EXPÉRIENCE V

Mélange de 10 parties de bouillon de culture du streptocoque 2 (scarlatine), avec 1 partie de sérum B (scarlatine). Examen immédiat négatif; le lendemain il est positif, le surlendemain encore. Le tube d'expérience est plus clair que le tube témoin, les grumeaux y sont plus épais, plus adhérents.

Culture de streptocoque de scarlatine, additionnée de sérum de scarlatine au 1/10, donne à l'examen macroscopique après 24 et 48 heures une agglutination positive quoique peu nette.

EXPÉRIENCE VI

Culture de 24 heures de streptocoque 2 (scarlatine) 5^e repiquage, le liquide est trouble, opalescent, avec fines particules en suspension; au microscope, les chaînes sont isolées, longues et courtes, quelques-unes enroulées sur elles-mêmes, et cependant quelques légers amas.

On ajoute à 20 gouttes de cette culture 1 goutte de sérum D (scarlatine). Après 4 heures, aucun résultat macro et microscopique; le lendemain, le résultat est encore négatif; il semble cependant y avoir plus de petits amas que la veille.

Comme l'expérience V, mais au 1/20, résultat macro et microscopique négatif.

EXPÉRIENCE VII

Tube I avec 20 gouttes culture jeune de 4 heures de streptocoque 2 (scarlatine) plus 1 goutte sérum D (scarlatine). Après 15 minutes et 1 heure, aucune agglutination macroscopique; au microscope, quelques chaînettes enroulées, quelques-unes réunies, mais la plus grande partie libres.

Tube II avec 20 gouttes de la même culture de streptocoque 2, plus 1 goutte de sérum F (normal); il ne se produit aucun changement à l'œil nu et au microscope.

Ces deux tubes sont mis à l'étuve; le lendemain le résultat est le même.

Comparaison d'un sérum scarlatineux et d'un sérum normal au 1/20 sur une culture jeune de streptocoque de scarlatine. Résultat négatif dans les deux cas, même après séjour de 24 heures à l'étuve.

EXPÉRIENCE VIII

Nous prenons deux tubes de culture fraîche en bouillon de streptocoque 6 (scarlatine).

Ces tubes sont troubles, homogènes, sans dépôt; au microscope les chaînettes y sont très abondantes, courtes, libres, sans amas considérable. On ajoute le sérum et on laisse à la température du laboratoire.

Tube 1 = culture + 6 gouttes sérum P (scarlatine).

Tube 2 = culture + 6 gouttes sérum M (normal).

Après 24 heures, les deux tubes ont un aspect sensiblement égal: le dépôt est en voie de formation, la partie supérieure du bouillon est claire, la partie inférieure trouble. Ces tubes sont mis à l'étuve, et le lendemain, les deux sont devenus clairs avec dépôt abondant. Un tube témoin de culture sans sérum est resté trouble dans les mêmes conditions.

Faisant agir sur une culture fraîche de streptocoque de scarlatine, du sérum de scarlatine et du sérum normal, l'agglutination se produit d'une façon identique avec les deux sérums au bout de quarante-huit heures.

EXPÉRIENCE IX

Nous prenons 4 tubes de culture de 24 heures en bouillon de streptocoque 6 (scarlatine) qui ont poussé avec trouble uniforme, sans dépôt :

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 5 gouttes sérum R (Erythème scarlatiniforme).

Tube 3 = + 5 gouttes sérum P (scarlatine)

Tube 4 = + 5 gouttes sérum O (scarlatine).

Ces tubes passent 24 heures à la température du laboratoire ; à l'examen : le tube 1 reste trouble, les tubes 2, 3 et 4 sont moins troubles et présentent un léger dépôt, un peu plus marqué dans les tubes 3 et 4.

Avec une culture de streptocoque de scarlatine en bouillon, l'agglutination, quoique douteuse, semble plus marquée avec des sérums de scarlatine qu'avec un sérum d'érythème scarlatiniforme.

c) Méthode par ensemencement de streptocoque dans un mélange de bouillon et de sérum placés ensuite à l'étuve.

EXPÉRIENCE X

Deux tubes de 1 cent. cube de bouillon sont ensemencés avec chacun 5 gouttes de la même culture de streptocoque 2 (scarlatine).

Le tube 1 témoin. — Le tube 2 reçoit du sérum D (scarlatine) au 1/30.

Les deux tubes sont mis à l'étuve. Après 20 heures, les deux tubes ont poussé. Le tube 1 témoin est trouble dans son ensemble, homogène, avec de fines particules en suspension. Tandis que le tube 2 est parfaitement transparent clair avec un dépôt épais, blanchâtre, cupuliforme au fond du tube. En agitant légèrement, le tube témoin ne change pas, le tube 2 montre de gros amas flottants dans le liquide clair, ces amas en grumeaux et en couenne.

En agitant très fortement, les deux tubes présentent un trouble analogue.

Au microscope, dans les deux tubes, on voit des chaînes libres et des amas qui sont cependant plus conséquents dans le tube 2.

On laisse reposer les deux tubes et, le lendemain, le phénomène se reproduit, mais moins frappant.

Une préparation, colorée au violet de gentiane, donne le même résultat microscopique que la veille.

Après trois jours, la réaction est encore moins nette ; cependant, le tube 2 reste plus clair que le témoin.

Essai d'ensemencement de streptocoque de scarlatine dans un mélange de bouillon et de sérum scarlatineux au 1/30, mis à l'étuve et comparé après 24 heures à un tube témoin.

Résultat macroscopique *positif* et absolument net, microscopique douteux.

EXPÉRIENCE XI

On prend 4 tubes, contenant chacun 50 gouttes de bouillon et on ajoute à chacun 2 gouttes de culture de streptocoque 2 (scarlatine).

1^{er} tube = tube témoin.

2^e tube = + 2 gouttes sérum D (scarlatine.)

3^e tube = + 10 — — —

4^e tube = + 2 gouttes sérum G (érythème scarlatiniforme.)

On met à l'étuve.

Après 20 heures :

Macroscopiquement : 1^{er} tube = trouble, homogène, opalescent.

2^e tube = clair avec dépôt, agglutination positive.

3^e tube = absolument clair, dépôt cupuliforme, agglutination positive.

4^e tube = trouble, mais moins que le 1^{er}, agglutination douteuse.

Microscopiquement : 1^{er} tube = chaînettes isolées sans amas.

2^e tube = amas, avec réunion de 20 et 30 éléments ou plus sans chaînes libres.

3^e tube = amas.

4^e tube = quelques amas et chaînes isolées.

Après 48 heures : les 4 tubes sont devenus clairs, mais en agitant légèrement, les grumeaux sont plus compacts dans les tubes 2 et 3. Au microscope, on retrouve dans les tubes 2 et 3 de gros amas en damier pointillé, dans les tubes 1 et 4, de petits amas et des chaînes isolées.

Ensemencement de streptocoque de scarlatine dans un mélange de bouillon et de sérum mis à l'étuve 24 heures. Avec le sérum de scarlatine, l'agglutination est nettement positive, plus frappante au 1/5 qu'au 1/25, macroscopiquement et microscopiquement. Avec le sérum d'érythème scarlatiniforme, le résultat est douteux, l'agglutination est plus marquée

que dans le tube témoin, et moins marquée que dans le tube à sérum scarlatineux.

EXPÉRIENCE XII

Six tubes contenant 1 centimètre cube de bouillon Martin sont ensemencés.

Tube 1		témoin.
— 2	+ streptocoque 3 (scarlatine)	+ 5 gouttes sérum H (scarlatine grave).
— 3		+ 5 gouttes sérum I (normal).
— 4		+ 5 gouttes sérum G (érythème scarlatiniforme).
— 5	+ streptocoque I	témoin.
— 6	(mastoidite)	+ 5 gouttes sérum H (scarlatine)

On met à l'étuve. Après 24 heures, le résultat reste douteux dans l'ensemble.

Les streptocoques se sont mal développés, les cultures des tubes témoins ne sont pas homogènes ; le sérum Martin pouvant être incriminé, cette expérience ne rentrera pas dans la statistique.

EXPÉRIENCE XIII

Six tubes de 1 centimètre cube de bouillon ordinaire.

Tube 1	+ 3 gouttes culture	témoin.
— 2	streptocoque 2 (scarlatine)	+ 5 gouttes sérum D (scarlatine)
— 3		+ 5 gouttes sérum K (érysipèle).
— 4	+ 3 gouttes culture	témoin.
— 5	streptocoque I (mastoidite)	+ 5 gouttes sérum D (scarlatine)
— 6		+ 5 gouttes sérum K (érysipèle).

Ces tubes sont mis à l'étuve. Examen après 24 heures :

Macroscopiquement : tube 1 = trouble homogène, opalescent, dépôt très léger.

Tube 2 = liquide clair et transparent, avec dépôt épais cupuliforme. Par agitation, des amas flottent en fausse membrane sans se désagréger.

Tube 3 = liquide plus trouble que dans le tube 2, moins que dans le tube 1, dépôt léger et quelques grumeaux.

Tube 4 = liquide clair et dépôt contre les parois, se trouble rapidement par agitation.

Tube 5 = comme le tube 4, avec dépôt considérable.

Tube 6 = comme les tubes 4 et 5, les grumeaux paraissent plus compacts.

Microscopiquement : Tube 1 = éléments en diplocoques ou courtes chaînettes, quelques amas de 4 à 6 éléments.

Tube 2 = quelques amas de 10 à 20 éléments, des chaînettes libres, pas de gros placards.

Tube 3 = présente le même aspect que le tube 2.

Tube 4 = chaînes isolées et amas en placard.

Tube 5 = moins d'amas que dans le tube 4.

Tube 6 = comme le tube 5.

Après 48 heures nouvel examen, donne les mêmes résultats que la veille mais moins sensibles.

Par la méthode d'ensemencement en bouillon et sérum mis à l'étuve, un streptocoque de scarlatine donne une agglutination macroscopique positive avec du sérum scarlatineux et une agglutination douteuse avec du sérum, non scarlatineux, d'érysipèle. Avec un streptocoque d'érysipèle le résultat reste incertain, l'échantillon présentant de par lui-même une réaction

agglutinante; cependant avec du sérum d'érysipèle l'agglutination semble plus visible que dans le tube témoin et que dans le tube contenant du sérum de scarlatine.

Au microscope aucun résultat.

EXPÉRIENCE XIV

Trois tubes de bouillon de 1 centimètre cube sontensemencés avec 10 gouttes de culture de streptocoque 6 (scarlatine).

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 10 gouttes sérum L (scarlatine même malade).

Tube 3 = + 10 gouttes sérum M (normal).

Ces tubes sont mis à l'étuve pendant 24 heures. Résultat : le tube 1 a poussé avec dépôt, les tubes 2 et 3 sont plus troubles et ont poussé plus abondamment. On les agite et les remet à l'étuve. Après 48 heures même résultat, les tubes 2 et 3 sont identiques. Au microscope les chaînes sont beaucoup plus abondantes dans les tubes 2 et 3, mais elles sont isolées sans amas. Trois jours après le résultat est le même.

Ensemencement de streptocoque de scarlatine dans un mélange de bouillon et de sérum de scarlatine du même malade, comparé à un sérum normal. L'agglutination est négative macroscopiquement et microscopiquement.

EXPÉRIENCE XV

A trois tubes contenant 50 gouttes de bouillon, nous ajoutons 1 goutte de culture fraîche de streptocoque 7 (retiré de

la rate 24 heures après la mort, chez un enfant atteint de scarlatine).

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 5 gouttes sérum T (scarlatine).

Tube 3 = + 5 gouttes sérum S (normal).

Ces tubes sont mis à l'étuve.

Après 4 heures les tubes présentent déjà un trouble homogène. Le lendemain, les 3 tubes sont troubles également, cependant dans les tubes 2 et 3 s'est formé un léger dépôt qui n'existe pas dans le tube 1.

Au microscope il n'y a pas d'amas, de nombreuses chaînes de streptocoques et de diplocoques, mais on aperçoit aussi de nombreux bâtonnets renflés au centre, extrêmement mobiles, que nous reconnaissons être du coli-bacille.

Essai d'agglutination d'un streptocoque de scarlatine retiré de la rate après la mort. L'agglutination semble négative, mais la culture étant envahie par du coli-bacille cette expérience ne compte pas dans la statistique.

d) Agglutination de trois variétés de streptocoques de scarlatine recueillis chez le même malade

EXPÉRIENCE XVI

A trois tubes, contenant chacun 50 gouttes de bouillon, nous ajoutons 5 gouttes par tube de sérum T (scarlatine).

Tube 1 = + 2 gouttes culture streptocoque 11 a

Tube 2 = + — — — b

Tube 3 = + — — — c

Ce streptocoque 11 a, b, c, a été retiré par ensemencement de la gorge d'un enfant atteint de scarlatine.

Après 24 heures à l'étuve à l'examen macroscopique :

Tube 1 = s'est mal développé.

Tube 2 = légèrement trouble avec léger dépôt.

Tube 3 = trouble, dépôt plus considérable.

Après 48 heures, les tubes 1 et 2 sont clairs avec dépôt léger, le tube 3 est trouble avec dépôt jaunâtre.

Essai d'agglutination au 1/10, par la méthode d'ensemencement en bouillon-sérum mis à l'étuve, de trois variétés de streptocoques, retirés de la gorge d'un malade atteint de scarlatine, par du sérum scarlatineux. L'agglutination macroscopique est négative pour deux variétés et douteuse, plutôt positive, pour la troisième variété.

EXPÉRIENCE XVII

Nous prenons 5 tubes de bouillon de 50 gouttes chaque :

Tube 1 = + 2 gouttes sérum V (scarlatine) + 2 gouttes streptocoque 11 a.

Tube 2 = + 2 gouttes sérum V (scarlatine) + 2 gouttes streptocoque 11 b.

Tube 3 = + 2 gouttes sérum V (scarlatine) + 2 gouttes streptocoque 11 c.

Tube 4 = + 2 gouttes sérum T (scarlatine) + 2 gouttes streptocoque 11 a.

Tube 5 = + 2 gouttes sérum S (normal) + 2 gouttes streptocoque 11 a.

Le streptocoque 11, variétés a, b, c, proviennent du même malade scarlatineux et c'est ce même malade qui a fourni le sérum V.

Les tubes sont mis à l'étuve. Examen macroscopique après 24 heures :

Tube 1 = bouillon presque clair sans dépôt.

Tube 2 — trouble avec dépôt.

Tube 3 — trouble avec dépôt.

Tube 4 = s'est mal développé, légèrement trouble.

Tube 5 = s'est peu développé, légèrement trouble.

Deux jours après, les deux premiers tubes ont déposé, le tube 3 est trouble, les tubes 4 et 5 légèrement troubles.

Essai d'agglutination par la méthode d'ensemencement d'un streptocoque de scarlatine en bouillon-sérum mis à l'étuve. Expérience faite sur 3 variétés de streptocoques, retirés chez le même malade atteint de scarlatine; agglutination par le sérum du même malade au 1/25 comparé à du sérum de scarlatineux différent et à du sérum normal. L'agglutination est négative, pour deux variétés; la troisième variété s'est mal développée et n'est pas plus agglutinée par du sérum scarlatineux que par du sérum normal.

e) Méthode par l'emploi d'une émulsion, obtenue en délayant dans de l'eau ou du sérum physiologique, les colonies de streptocoques sur gélose

EXPÉRIENCE XVIII

Sur un tube de gélose la gélose doit être sèche, recouverte de nombreuses colonies de streptocoque 2 (scarlatine) on verse 1 cent. cube d'eau stérilisée. Avec un fil de platine, on délaie

les colonies dans l'eau et on recueille une émulsion fine de streptocoques dans de l'eau. Cette émulsion est portée dans deux tubes ; le tube 1 témoin, le tube 2 reçoit 5 gouttes de sérum D (scarlatine). Le mélange est au 1/50. On examine macro et microscopiquement après une demi-heure, 1 heure, 4 heures et 20 heures. Il n'y a aucune agglutination, les deux tubes restent troubles, les chaînes restent isolées avec, dans les deux tubes, de très petits amas.

Essai d'agglutination avec une émulsion obtenue en délayant les colonies de streptocoque sur gélose, dans de l'eau. Le résultat est négatif, au 1/50, à l'examen macroscopique et microscopique.

EXPÉRIENCE XIX

On prend un tube de gélose de streptocoque 2 scarlatine, bien développé. On délaie les colonies dans du sérum physiologique (eau distillée et chlorure de sodium à 7 pour 1000). On répartit l'émulsion obtenue dans deux tubes ; le tube 1 témoin, le tube 2 est additionné de 5 gouttes de sérum D scarlatine.

A l'examen après 1 heure, il n'y a aucune agglutination appréciable à l'œil nu, ni au microscope.

Après 24 heures, le tube 2 présente un dépôt un peu plus considérable et en agitant, les grumeaux sont plus nombreux et compacts.

Au microscope, les amas paraissent plus grands et il y a moins de chaînes isolées dans le tube 2 que dans le tube témoin.

Deux jours après, on ne constate plus la réaction.

Avec une émulsion de streptocoques de scarlatine sur gélose, délayés dans du sérum physiologique, l'agglutination est positive avec du sérum scarlatineux mais peu appréciable.

- f) **Méthode par ensemencement de streptocoque dans un mélange de sérum et de bouillon additionné de moitié sérum physiologique, en tubes étroits**

EXPÉRIENCE XX

On prend 3 tubes de verre fins, d'un diamètre de 5 millimètres, contenant moitié bouillon ordinaire, moitié sérum physiologique (eau salée à 7 pour 1000). Onensemence chacun des 3 tubes avec 2 gouttes de streptocoque 2 scarlatine.

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 5 gouttes sérum H (scarlatine).

Tube 3 = + 5 gouttes sérum I (normal).

On met à l'étuve.

Après 24 heures, il n'y a aucun résultat macroscopique; le streptocoque s'est mal développé et dans les tubes trop effilés est tombé de lui-même en dépôt au fond du tube. — Au microscope, pas d'agglutination sur les préparations colorées au violet et non colorées.

Essai d'ensemencement de streptocoque de scarlatine dans un mélange de bouillon et de sérum physiologique en tubes effilés.

Sans résultat macroscopique, le streptocoque s'étant développé en dépôt. Pas d'agglutination microscopique.

- g) **Méthode par ensemencement en sérum pur**

EXPÉRIENCE XXI

Ensemencement de streptocoques dans du sérum pur, 1/3 de cent. cube environ par tube.

Tube 1 = sérum M (normal)	} ensemencés avec du streptocoque 2 (scarlatine)
Tube 2 = sérum L (scarlatine)	
Tube 3 = sérum K (érysipèle)	
Tube 4 = sérum M (normal)	} ensemencés avec du streptocoque IV (érysipèle)
Tube 5 = sérum L (scarlatine)	
Tube 6 = sérum K (érysipèle)	

On examine 4 heures après, les tubes ayant été déposés à l'étuve. A l'œil nu, on n'aperçoit encore rien. Au microscope, une goutte déposée sur lamelle, et en préparation colorée, les tubes 1 et 3 présentent de longues chaînes isolées tandis que dans le tube 2 les chaînes sont réunies, enlacées entre elles en petits groupes. — Après 24 heures, le sérum est trouble dans les tubes 1, 2, 3 sans dépôt; dans les tubes 4, 5, 6 il y a un dépôt formé de grumeaux. Au microscope, le tube 1 a très peu poussé, 4 et 5 ont poussé abondamment avec amas; le tube 6 n'a que peu poussé.

Après 48 heures, au microscope, les tubes 1 et 2 présentent des amas nombreux, les tubes 4 et 5 de même, tandis que le streptocoque s'est à peine développé dans le tube 6.

Recherche d'ensemencement d'un streptocoque dans du sérum pur correspondant et dans d'autres sérums de comparaison. Pour le streptocoque de scarlatine, après 4 heures, l'agglutination microscopique est positive. Macroscopiquement, il n'y a pas de résultat. Le streptocoque d'érysipèle n'a donné aucun résultat.

EXPÉRIENCE XXII

Nous prenons deux tubes minces (8 millimètres de diamètre).

Tube 1 = 5 gouttes streptocoque 6 (scarlatine) dans 40 gouttes sérum L (scarlatine, même malade).

Tube 2 = 5 gouttes streptocoque 6 (scarlatine) dans 40 gouttes sérum M (normal).

Ces tubes, mis à l'étuve, sont examinés après 24 heures.

Examen macroscopique. — Le tube 1 paraît plus clair que le tube 2, il présente un dépôt plus abondant; à l'agitation, les grumeaux sont un peu plus compacts, mais ces différences ne sont que très légères.

Examen microscopique. — Dans le tube 1, des amas en grands placards, pas de chaînes libres; dans le tube 2, quelques éléments libres, mais aussi des amas de moyenne grandeur.

Ensemencement d'un streptocoque de scarlatine dans du sérum pur de scarlatine, du même malade, mis à l'étuve; comparé à un ensemencement en sérum normal.

L'agglutination est douteuse; plutôt positive dans le sérum scarlatineux comparé au sérum normal.

b) Méthode de Hasenknopf et Salge simplifiée

EXPÉRIENCE XXIII

On prend 3 cent. cubes de bouillon de culture du streptocoque 2 (scarlatine); on les centrifuge; on décape le bouillon; on verse de l'eau stérilisée pour laver le culot et enlever le bouillon qui reste au fond du tube, on centrifuge à nouveau, on décape, et on délaie dans 3 cent. cubes d'eau stérilisée. On obtient ainsi une émulsion qui est répartie dans 5 tubes :

- 1^{er} tube = témoin.
- 2^e tube = + 1 goutte sérum D (scarlatine)
- 3^e tube = + 5 — — — — —
- 4^e tube = + 5 gouttes sérum E (érythème scarlatiniforme.)
- 5^e tube = + 5 gouttes sérum I (normal.)

Pendant les 5 premières heures, ces tubes qui reposent à la température du laboratoire ne subissent aucun changement visible à l'œil nu.

Après 24 heures, les 5 tubes présentent le même aspect: dans ceux dans lesquels il y avait du sérum, le trouble est plus manifeste; le streptocoque s'y est développé mieux que dans ceux où il n'y avait que de l'eau. Au microscope, dans les 5 également, quelques légers amas et des chaînettes libres.

Méthode de Hasenknopf simplifiée. Une culture de streptocoque de scarlatine en bouillon est centrifugée et le culot délayé dans de l'eau. On n'obtient aucune agglutination avec du sérum de scarlatine, pas plus qu'avec du sérum d'érythème scarlatiniforme et du sérum normal.

i) Méthode de Hasenknopf et Salge

EXPÉRIENCE XXIV

Un tube de culture en bouillon du streptocoque 2 (scarlatine) de 4 centimètres cubes est mis à centrifuger pendant 20 minutes. On décape ensuite le bouillon. On verse sur le culot une solution de sérum phéniqué (eau + chlorure de sodium 8, 5 ‰ + acide phénique 5 ‰).

On centrifuge à nouveau. On décape. On porte le culot, délayé dans quelques gouttes de sérum phéniqué, dans un tube stérilisé, on ajoute 1 centimètre cube de lessive de soude au 1/50 et avec une pipette on souffle longtemps de suite pour désagréger les particules jusqu'à émulsion bien homogène. On ajoute ensuite prudemment une solution d'acide chlorhydrique au 1/100 jusqu'à réaction alcaline faible au papier de tournesol puis on dilue dans du sérum phéniqué pour obtenir l'émulsion qui va servir aux recherches.

On porte l'émulsion, 100 gouttes, dans chacun des 5 tubes.

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 1 goutte sérum P (scarlatine), au 1/100.

Tube 3 = + 10 — — — — 1/10.

Tube 4 = + 10 gouttes sérum M (normal).

Tube 5 = + 10 sérum G (érythème scarlatiniforme).

Ces tubes sont mis à l'étuve.

Examen après 24 heures. Les 5 tubes sont clairs transparents avec dépôt. Par agitation les fines particules en dépôt se désagrègent, flottent et le liquide se trouble uniformément.

La réaction est la même dans les 5 tubes.

Le dépôt du tube 3 paraît un peu plus adhérent. Au microscope le tube témoin présente des amas de 10 à 20 éléments, des chaînes entrelacées en groupes et des chaînes isolées. Les tubes 2, 3, 4, 5 montrent des amas et des chaînes isolées tout comme dans le tube témoin. A la coloration au violet de gentiane on retrouve les mêmes formes.

Recherche de Hasenknopf et Salge, technique identique; au lieu de piler le culot centrifugé dans un mortier, on souffle avec une pipette pour désagréger les amas. Résultat pour la scarlatine macro et microscopique négatif au 1/10, au 1/100 et comparé à des sérum autres qu'à scarlatine.

EXPÉRIENCE XXV

Nous prenons l'émulsion obtenue dans l'expérience XXIV par la méthode de Hasenknopf et Salge. Nous en mettons 20 gouttes dans deux verres de montre; le premier témoin, le deuxième additionné de 2 gouttes de sérum O (scarlatine).

Examen microscopique fait après 5 minutes, 15 minutes, une demi-heure et une heure, montre dans les deux verres de montre des amas petits et des chaînes isolées; il semble que dans le second, les amas sont un peu plus considérables, mais la différence est à peine appréciable. Les préparations sont examinées directement et avec coloration, le résultat est le même.

Essai d'agglutination par la méthode immédiate de Widal sur l'émulsion de Hasenknopfau 1/10. Résultat négatif.

EXPÉRIENCE XXVI

Trois tubes de streptocoque 6 (scarlatine) en bouillon sont centrifugés. Après décapage, on lave le culot avec la solution phéniquée.

On centrifuge à nouveau. Le culot est porté dans un verre de montre et broyé avec un bâton de verre, dans la lessive de soude. On ajoute de la solution d'acide chlorhydrique jusqu'à réaction alcaline faible. On dilue dans du sérum phéniqué. On souffle longtemps encore avec une pipette en verre pour désagréger les petits amas. Cette émulsion est portée dans 4 tubes; 40 gouttes par tube.

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 2 gouttes sérum P (scarlatine).

Tube 3 = + 10 — — —

Tube 4 = + 10 — — M (normal).

Après 24 heures à l'étuve :

Examen macroscopique :

Tube 1 = trouble, très léger dépôt.

Tube 2 = trouble léger avec dépôt.

Tube 3 = clair avec dépôt abondant.

Tube 4 = assez trouble avec léger dépôt.

Il y a une gradation qui va du tube 3 le plus clair, au tube 2, puis 4, puis 1 le plus trouble.

Examen microscopique :

Dans le tube 3, de gros amas et des chaînes libres, dans les autres tubes de petits amas et surtout des chaînes libres.

Méthode de Hasenknopf et Salge. L'agglutination est positive pour le streptocoque de scarlatine au 1/4 à l'examen macroscopique et microscopique, elle est douteuse au 1/20.

Cependant, ce résultat positif est peu net. Malgré les diverses manipulations nous n'avons pu obtenir une émulsion tout à fait satisfaisante, au microscope on retrouve, dans cette émulsion, des petits amas, les chaînes ne sont pas complètement désagrégées.

j. Agglutination avec du sérum de lapin immunisé

EXPÉRIENCE XXVII

On sème 1 goutte de streptocoque 2 (scarlatine) dans 10 gouttes de sérum N (sérum de lapin ayant reçu 13 jours avant une injection de 2 centimètres cubes de culture du même streptocoque 2 très peu virulent), on met à l'étuve.

Examen 24 heures après : le sérum est clair, avec dépôt en grumeaux. Au microscope, on voit de gros amas de longues chaînes entrelacées en peloton de ficelle, pas d'amas en damier, peu de chaînes libres.

Essai d'agglutination de streptocoque de scarlatine par du sérum de lapin immunisé contre ce même streptocoque.

Ensemencement du streptocoque dans ce sérum pur mis à l'étuve. L'agglutination est positive macro et microscopiquement.

B) AGGLUTINATION DE STREPTOCOQUES AUTRES QUE CEUX PROVENANT DE SCARLATINE

a) Recherche avec le streptocoque et le sérum recueillis dans un cas de diphtérie maligne

EXPÉRIENCE XXVIII

Nous prenons 5 tubes :

Tube 1 = bouillon + streptocoque V (diphtérie maligne).

Tube 2 = bouillon + streptocoque V (diphtérie) + sérum Q (diphtérie).

Tube 3 = bouillon + streptocoque V (diphtérie) + sérum M normal.

Tube 4 = bouillon + streptocoque IV (érysipèle) + sérum Q (diphtérie).

Tube 5 = bouillon + streptocoque IV (érysipèle).

Ces tubes sont mis à l'étuve ; après 24 heures, l'examen donne :

Macroscopiquement : tube 1 = légèrement trouble avec dépôt.

Tube 2 = liquide clair, grumeaux en suspension, dépôt.

Tube 3 = liquide clair, sans grumeaux, dépôt.

Tube 4 = assez trouble avec grumeaux et dépôt.

Tube 5 = liquide nettement trouble, dépôt insignifiant.

Macroscopiquement : tube 1 = nombreuses chaînes libres déliées, pas d'amas.

Tube 2 = à la surface pas de microbes, dans le dépôt, chaînes libres.

Tube 3 = des chaînes libres sans amas.

Tube 4 = pas d'amas.

Tube 5 = nombreuses chaînettes libres, diplocoques.

Après 48 heures, l'examen est pareil, mais moins net.

Nous avons fait agir sur un streptocoque retiré, après la mort, du cœur, dans un cas de diphtérie maligne, le sérum retiré du même malade, comparant l'action de ce sérum, à celui d'un enfant normal et comparant l'action de ce streptocoque à celle d'un streptocoque d'érysipèle.

La méthode était celle d'ensemencement du streptocoque dans le mélange de bouillon et sérum, mis à l'étuve.

Après 24 heures à l'œil nu, pour le streptocoque de diphtérie, l'agglutination a été positive aussi bien avec du sérum normal qu'avec du sérum du même malade diphtérique. Le sérum de diphtérique, qui agglutinait le streptocoque de diphtérie, a paru ne pas agglutiner un streptocoque d'érysipèle, quoique cette agglutination reste douteuse, négative.

Au microscope, nous n'avons constaté aucune agglutination.

EXPÉRIENCE XXIX

Trois tubes sont mis à l'étuve :

Tube 1 = sérum Q (diphtérie) pur + streptocoque V (diphtérie).

Tube 2 = sérum Q (diphtérie) pur + streptocoque IV (érysipèle).

Tube 3 = sérum M normal pur + streptocoque V (diph-térie).

Après 24 heures, on ne note pas de différence appréciable entre les tubes 1 et 2 ; ils sont, à cause du sérum légèrement laqué brun, plus foncés que le tube 3. Au microscope :

Tube 1 = amas très considérables en vastes placards, pas de chaînes isolées.

Tube 2 = quelques petits amas, a peu poussé.

Tube 3 = a peu poussé, sans grands amas.

Ensemencement d'un streptocoque provenant d'un cas de diphtérie maligne dans du sérum pur provenant du même malade. L'agglutination microscopique est positive.

Dans le sérum pur, le microbe correspondant se développe mieux que dans d'autres sérums. Le streptocoque correspondant se développe mieux dans un sérum, qu'un autre streptocoque.

b) Agglutination du streptocoque d'érysipèle

EXPÉRIENCE XXX

A 3 tubes de bouillon on ajoute 1 goutte de culture du streptocoque IV (érysipèle).

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 2 gouttes sérum K (érysipèle).

Tube 3 = + 2 gouttes sérum G (érythème scarlatiniforme).

Ces 3 tubes sont mis à l'étuve. Après 24 heures, les 3 tubes présentent le même trouble homogène sans dépôt. Après 48 heures, un dépôt épais s'est formé dans les 3 tubes également, le liquide reste trouble. Par agitation, dans l'un et l'autre, le dépôt flotte en fausse membrane et se désagrège difficilement.

Au microscope, les chaînes sont isolées, quelques amas légers, mais dans les 3 tubes également.

Essai d'agglutination du streptocoque d'érysipèle, par du sérum de malade atteint d'érysipèle ; comparé à un autre sérum, par la méthode d'ensemencement en bouillon et sérum. Agglutination négative.

EXPÉRIENCE XXXI

Trois tubes de bouillon ordinaire de 1 cent. cube sont placés à l'étuve à 37° après avoir été ensemencés avec du streptocoque IV (érysipèle).

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 10 gouttes sérum D (scarlatine).

Tube 3 = + 10 gouttes sérum K (érysipèle).

Après 24 heures, les trois tubes sont devenus troubles, dans aucun il n'existe d'agglutination macroscopique ; les tubes 2 et 3 contiennent un très léger dépôt, ils ont une coloration un peu plus jaune.

Examen microscopique. — Dans aucun, il n'y a d'amas agglutiné, le streptocoque a poussé plus abondamment dans le tube 3. Après 48 heures, le tube 3 paraît un peu plus clair que les autres.

Recherche sur le streptocoque d'érysipèle avec du sérum de malade atteint d'érysipèle, comparé à du sérum de scarlatineux.

L'agglutination est négative macro et microscopiquement.

EXPÉRIENCE XXXII

Nous prenons 3 tubes de culture de 24 heures en bouillon du streptocoque IV (érysipèle), la culture est abondante, d'un trouble homogène, mais avec dépôt léger. Chaque tube contient 40 gouttes.

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 5 gouttes sérum P (scarlatine).

Tube 3 = + 5 gouttes sérum I (normal).

Après 24 heures à la température ordinaire, les 3 tubes commencent à s'éclaircir également de haut en bas. Après trois jours, le bouillon est clair et un dépôt s'est formé dans les 3 tubes.

Avec du sérum de scarlatine et du sérum normal, agissant sur un streptocoque d'érysipèle, l'agglutination est négative macroscopiquement.

Au bout de 3 jours, un dépôt se forme dans les tubes additionnés de sérum comme dans le tube témoin.

EXPÉRIENCE XXXIII

Nous ensemençons trois tubes de bouillon avec 4 gouttes de culture du streptocoque IX (érysipèle) :

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 3 gouttes sérum S (normal).

Tube 3 = + 3 gouttes sérum T (scarlatine).

Ces tubes sont mis à l'étuve.

Après 24 heures, les 3 tubes ont exactement le même aspect, ils sont troubles, d'une façon homogène, sans grumeaux ni dépôt. Pendant 3 jours, l'aspect reste le même, mais il se forme

un léger dépôt, qui est un peu plus abondant dans les tubes 2 et 3.

Par ensemencement dans un mélange de bouillon et de sérum mis à l'étuve, au 1/15, l'agglutination d'un streptocoque d'érysipèle est négative avec un sérum normal et avec un sérum scarlatineux.

c) Agglutination du bacille de Loeffler

EXPÉRIENCE XXXIV

Chez un enfant atteint d'angine diphtérique, par ensemencement d'un débris de fausse membrane, sur sérum coagulé, nous obtenons un bacille diphtérique long que nous repiquons en bouillon ordinaire. Ces cultures en bouillons ont mises dans deux tubes, 50 gouttes par tube.

Tube 1 = + 10 gouttes sérum U (diphtérie).

Tube 2 = + 10 gouttes sérum S (normal).

Après 24 heures de séjour à l'étuve, les deux tubes sont absolument clairs, avec dépôt membraneux dans le fond du tube. Au microscope, dans les deux tubes, les bacilles sont réunis en groupes, accolés les uns aux autres; il y a de grands amas et pas de bacilles isolés. Après 48 heures, le résultat est le même.

Un sérum de malade atteint de diphtérie et ayant reçu une injection de sérum antidiphtérique, n'agglutine pas davantage au 1/5 une culture en bouillon de bacilles de Loeffler, qu'un sérum d'enfant normal.

EXPÉRIENCE XXXV

Nous prenons trois verres de montre, nous mettons 20 gouttes de culture en bouillon de bacille diphtérique long dans chaque.

Verre 1 = témoin.

Verre 2 = + 2 gouttes sérum antidiphtérique de l'Institut Pasteur.

Verre 3 = + 2 gouttes sérum U (diphtérie)

A l'examen, après 5 minutes, on ne constate aucune agglutination. Après 15 minutes, au microscope il semble y avoir plus d'amas dans les verres 2 et 3 que dans le verre 1. Après 2 heures, les verres 2 et 3 présentent un dépôt aréolé le long des parois et les amas sont plus grands et plus compacts que dans le verre 1; cependant dans le verre témoin, nous retrouvons aussi des amas.

Agglutination, par la méthode immédiate de Widal, du bacille de Loeffler par du sérum de malade atteint de diphtérie et par du sérum antidiphtérique. Quoique la culture de bacille de Loeffler en bouillon ait une tendance naturelle à déposer et à former des amas, l'agglutination est plus forte au 1/10 avec l'addition de sérum, après 2 heures.

EXPÉRIENCE XXXVI

Nous prenons 4 tubes, contenant chacun 40 gouttes de culture en bouillon de bacille long diphtérique :

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 2 gouttes sérum antidiphtérique.

Tube 3 = + 2 gouttes sérum U (diphthérie).

Tube 4 = + 2 gouttes sérum S (normal).

Déposés à la température du laboratoire après 3 heures, il n'y a aucune agglutination. Après 20 heures, les 4 tubes sont clairs, avec dépôt, d'une façon identique. Par agitation, le tube 1 redevient rapidement uniformément trouble tandis que les 3 autres tubes montrent des grumeaux compacts, flottants dans un liquide clair. Au microscope, il y a de petits amas et des bacilles isolés dans le tube 1. Dans les trois autres tubes, d'une manière analogue, les amas sont plus compacts, plus grands, sans bacilles libres. Après 48 heures, même résultat; par agitation les grumeaux sont plus compacts dans les tubes 3 et 4. Après trois jours, les quatre tubes sont troubles et le dépôt a disparu.

Le sérum d'enfant normal, aussi bien que le sérum d'enfant atteint de scarlatine et que le sérum anti-diphthérique, agglutine le bacille de Loeffler après 20 heures au 1/20 par la méthode macroscopique et microscopique.

EXPÉRIENCE XXXVII

A 3 tubes de bouillon, nous ajoutons 2 gouttes de culture de bacille diphthérique long :

Tube 1 = témoin.

Tube 2 = + 2 gouttes sérum U (diphthérie).

Tube 3 = + 2 gouttes sérum S (normal).

Ces tubes sont mis à l'étuve. Après 24 heures les trois tubes sont clairs avec dépôt. Par agitation, le tube 1 devient trouble uniformément; les tubes 2 et 3 présentent des grumeaux flottants dans le liquide. Après 48 heures, le résultat est le même mais le bacille s'est développé plus abondamment dans

les tubes 2 et 3. Au microscope, on ne peut apercevoir de différence entre les trois tubes, le tube témoin présente des amas aussi grands et compacts qu'e les autres tubes.

Par la méthode d'ensemencement du microbe dans le mélange de bouillon et sérum au 1/20, le bacille de Loeffler est agglutiné aussi bien par du sérum normal que par du sérum de malade atteint de diphtérie.

D. — NOTE D'EXPÉRIENCES INÉDITES DE M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ MÉRY

Voici une note, sur des expériences inédites, que M. le professeur agrégé Méry a eu l'obligeance de nous remettre et que nous donnons *in-extenso*.

« J'ai eu l'occasion de faire, dans les années 1897 et 1898, quelques recherches sur l'agglutination des streptocoques. Les streptocoques étudiés provenaient surtout de scarlatineux; ils ont été comparés avec un streptocoque provenant d'un érysipèle, et avec le streptocoque dont M. Marmorek s'est servi pour obtenir son sérum. J'avais adopté comme milieu de culture le sérum de lapin qui a l'avantage d'offrir pour les streptocoques précités une culture uniformément trouble et homogène. J'ai obtenu nettement le phénomène de l'agglutination en ajoutant dans un verre de montre, à dix gouttes environ de culture d'un streptocoque scarlatineux, une à deux gouttes d'un sérum d'un lapin inoculé avec le même streptocoque, le sérum d'un lapin normal ne produisant

absolument aucun phénomène analogue. L'agglutination se faisait sous forme d'amas extrêmement considérables. Je l'ai obtenue ainsi des plus nettes dans un grand nombre de cas.

J'ai essayé alors de différencier, par ce procédé, les divers streptocoques que j'avais à ma disposition. J'ai eu, dans un certain nombre de cas, des résultats intéressants : le sérum de lapin inoculé avec d'autres streptocoques, tels que le streptocoque de Marmorek et celui de l'érysipèle, ne produisait aucun phénomène d'agglutination sur les cultures de streptocoque scarlatineux, alors que cette culture était agglutinée par le sérum de lapin inoculé avec divers streptocoques scarlatineux. Malheureusement, ces résultats n'ont pas été constants et même parmi les streptocoques scarlatineux, je me suis trouvé en présence de résultats très variables : les uns positifs, les autres négatifs, semblant montrer qu'il y avait, même dans la scarlatine, des espèces variables. En résumé, je n'ai pu tirer du phénomène d'agglutination, très évident chez certains streptocoques, un critérium pour distinguer les uns des autres différentes espèces de streptocoques. »

Nous remercions M. Méry, de nous avoir communiqué le résultat de ses recherches, qui vient appuyer et confirmer, par des expériences faites avec du sérum d'animal immunisé, les conclusions auxquelles nous aboutissons.

TROISIÈME PARTIE

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Avant d'interpréter les expériences précédentes et d'en tirer des conclusions, nous pensons qu'il est indispensable d'en donner une vue d'ensemble.

1. — AGGLUTINATION DU STREPTOCOQUE DE LA SCARLATINE

I. — Dans une première série d'expériences, *par la méthode microscopique de Widal*, nous voyons, sur quatre recherches, l'agglutination être négative trois fois et douteuse une fois. Ces essais ont été faits avec une culture ancienne, avec des cultures jeunes de quatre heures, les dilutions ont été au 1/10, au 1/4, deux fois à 1/1. Dans trois cas, nous avons employé un sérum provenant du même malade que l'échantillon de streptocoque. Une fois seulement, le résultat n'a pas été franchement négatif, encore s'agissait-il d'une dilution à 1/1, avec sérum du même malade et emploi d'une culture jeune, vivace. Nous pouvons donc conclure que, de cette méthode, nous n'avons pu tirer de résultat pratique.

II. — Dans une deuxième série d'expériences par la *méthode microscopique de Charrin et Roger, Widal*, sur cinq recherches, l'agglutination a été négative dans deux cas, douteuse dans un cas, positive dans deux cas ; mais remarquons de suite que, pour la première, l'agglutination positive, peu nette, n'a pu être décelée que par une comparaison délicate entre le tube agglutiné et le tube témoin, pour la deuxième, l'agglutination ayant été aussi nettement positive avec un sérum normal de comparaison, qu'avec le sérum scarlatineux, nous la faisons rentrer dans le cadre des résultats négatifs. — Les dilutions étaient au 1/10 et au 1/20. — Les cultures employées étaient de préférence prises jeunes après quatre et cinq heures d'étuve.

L'examen microscopique a confirmé le résultat macroscopique.

En résumé, avec cette méthode, l'agglutination a été négative trois fois, positive une fois et douteuse une fois. Remarquons qu'il est préférable d'employer des cultures jeunes de quatre heures et qu'il faut toujours comparer l'action d'un sérum normal à celle du sérum étudié.

III. — Dans la troisième série, *par ensemencement du streptocoque en bouillon additionné du sérum scarlatineux mis ensuite à l'étuve*, l'agglutination est positive trois fois et négative une fois à l'examen macroscopique.

Le résultat microscopique n'a pas été toujours

concordant ; ceci tient à ce que le tube témoin peut présenter après vingt-quatre heures d'étuve quelques amas au microscope ; de même, un tube agglutiné à l'œil nu, peut être formé d'un dépôt d'éléments libres, non réunis en amas. Nous avons opéré à des taux différents, peu élevés ; dans l'expérience XI au $\frac{1}{25}$ l'agglutination est déjà moins marquée qu'au $\frac{1}{5}$ et devient douteuse à des taux plus élevés. Lorsqu'on compare l'action exercée par différents sérums sur un streptocoque de scarlatine, on constate que tous ces sérums ont une influence agglutinative, mais progressivement croissante, en allant du sérum normal au sérum de scarlatine. C'est ainsi que l'agglutination est plus marquée avec du sérum de scarlatine qu'avec un sérum d'érythème scarlatiniforme, et plus marquée avec ce dernier qu'avec un sérum normal. Le résultat n'est donc que comparatif, et encore reste-t-il parfois douteux.

Cette méthode est celle qui nous a donné les résultats macroscopiques les meilleurs, les plus nets et les plus précis.

IV. — Par le même procédé, opérant sur trois variétés de streptocoques recueillis chez le même malade, l'agglutination est négative pour les trois variétés, aussi bien avec du sérum normal qu'avec le sérum du même malade dans un cas ; négative pour deux variétés et douteuse pour la troisième, dans un second cas.

V. — Par l'emploi d'une émulsion, obtenue en dé-

layant les colonies sur gélose dans de l'eau salée à 7 pour 1000, l'agglutination est négative dans la première expérience, positive, mais peu appréciable dans la seconde.

M. Zelenski, dans une récente publication, vante cette méthode, et dit en obtenir une émulsion satisfaisante. Nous ne sommes pas de son avis, malgré toutes les manipulations, agitation, soufflerie, etc., il reste toujours des amas de microbes qu'on ne peut dissocier. L'émulsion, laissée au repos, dépose spontanément au bout de peu de temps.

VI. — Essai, par la méthode d'ensemencement, en mélange de sérum et de bouillon ; nous avons ajouté au bouillon, moitié sérum physiologique et opéré *en tubes étroits*, sans résultat macroscopique, au microscope l'agglutination est négative. Nous espérons obtenir, avec des tubes minces et étroits une agglutination plus rapide et plus facilement constatable, mais il arrive alors que le streptocoque ne se développe que dans le fond du tube en culture ordinaire, soit à cause de l'étroitesse du tube, soit pour une autre raison.

VII. — *Par ensemencement en sérum pur*, nous obtenons un résultat microscopique positif, sans pouvoir le constater à l'examen macroscopique et un résultat douteux. Il est à remarquer que le microbe se développe mieux dans le sérum pur correspondant que dans d'autres sérums. De même dans un sérum, le

streptocoque correspondant se développe mieux que d'autres streptocoques.

VIII. — *Méthode de Hasenknopf et Salge simplifiée*, l'agglutination est négative.

IX. — *Méthode de Hasenknopf et Salge*. Nous avons tenu à reproduire les expériences de Hasenknopf et Salge avec tous les détails de technique indiqués dans leur mémoire. Dans un cas, l'agglutination était négative à l'examen macroscopique et microscopique au 1/100 et au 1/10. Dans le second cas, elle est négative microscopiquement au 1/10. Dans le troisième cas, elle n'est pas plus marquée au 1/20 avec du sérum de scarlatine qu'avec du sérum normal; au 1/4 elle est plutôt positive quoique peu appréciable.

Cette méthode, longue et compliquée, a pour but d'obtenir une émulsion homogène. Malgré tout le soin que nous avons pris, nous n'avons pu y réussir entièrement; il est toujours resté dans l'émulsion quelques amas légers et les tubes au repos ont toujours gardé une tendance naturelle à déposer.

MM. Hasenknopf et Salge sont arrivés à des résultats positifs constants; les nôtres sont inconstants et souvent négatifs. L'appréciation du résultat de l'agglutination se faisant par une comparaison, souvent fort délicate, entre le tube témoin et le tube auquel le sérum a été ajouté, elle peut donner lieu à des interprétations différentes suivant les expérimentateurs. D'autre part, lorsqu'on compare, dans

chaque expérience, l'agglutination par un sérum scarlatineux à celle obtenue par d'autres sérums normaux ou autres, cette comparaison laisse souvent dans le doute sur un résultat qui aurait paru, de prime abord, nettement positif.

X. — Dans du *sérum de lapin immunisé* par un streptocoque de scarlatine, ce même streptocoque est agglutiné. M. Méry, dans les recherches qu'il a faites sur ce sujet et que nous donnons à la suite de nos expériences, a obtenu nettement le phénomène de l'agglutination, mais ses résultats ont été inconstants et variables.

II. RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES DE CONTRÔLE

1. Agglutination de streptocoques autres que ceux de la scarlatine

Nous avons tenu à appliquer les méthodes employées pour l'agglutination du streptocoque de la scarlatine, à d'autres streptocoques, cherchant à contrôler par l'agglutination du streptocoque en général l'application particulière faite dans la scarlatine.

1. Avec le *streptocoque* et le *sérum* recueillis dans un cas de *diphtérie maligne*, l'agglutination, par ensemencement en sérum bouillon, est positive, macroscopiquement, mais elle l'est tout aussi bien avec du sérum normal qu'avec le sérum homologue ; à l'examen microscopique elle est négative. Par ensemencement en sérum pur, l'agglutination microscopique

est positive. Remarquons, en passant, que le streptocoque, ici encore, pousse mieux dans le sérum correspondant pur que dans d'autres sérums.

II. Dans une série d'expériences sur l'agglutination du *streptocoque d'érysipèle par du sérum homologue*, l'agglutination est négative 4 fois, par différentes méthodes, à diverses dilutions, à l'examen macroscopique et microscopique.

III. *Agglutination du bacille de Loeffler.*

Ces expériences ne rentrent pas dans le cadre de notre sujet ; nous les mentionnons cependant puisqu'elles peuvent s'y rapporter indirectement. Nous voulions appliquer nos méthodes à un microbe immobile et reconnu spécifique d'une maladie.

De ces essais, faits par des méthodes différentes, à des dilutions variées, avec divers échantillons, nous pouvons conclure que tout sérum, aussi bien un sérum normal, qu'un sérum d'individu atteint d'une maladie autre que la diphtérie, agglutine le bacille de Loeffler, tout comme le sérum correspondant de malade diphtérique. Cette réaction n'a donc ici rien de spécifique.

Arrivés au terme de cet exposé, nous devons chercher à en dégager les résultats positifs. Il en est un qui doit être signalé tout d'abord, c'est que le streptocoque peut être agglutiné. Mais il est à peine besoin d'ajouter que cette faculté ne peut être mise en évidence que dans certaines conditions, et qu'elle est loin d'être aussi facile à constater que celle des

microbes mobiles, comme le bacille d'Eberth. Nous pensons du reste, comme M. Widal l'avait pressenti dès sa première découverte et comme MM. Nicolle et Frenel le déclarent encore, que la sensibilité d'un microbe vis-à-vis du pouvoir agglutinatif d'un sérum n'est mise en évidence qu'en raison de sa mobilité et que, par conséquent, la constatation de ce phénomène, simple pour un bacille très mobile, devient extrêmement difficile lorsqu'il s'agit d'un microbe immobile donnant plus de prise aux lois de la pesanteur et de l'attraction moléculaire.

Aussi, pour obtenir des cultures homogènes, avons-nous dû adopter une technique particulière par repiquages successifs de cultures jeunes de quelques heures. Et encore tous les échantillons de streptocoques ne se prêtent-ils pas à cette méthode. C'est sur de telles cultures que nous avons fait agir différents sérums pour rechercher le phénomène de l'agglutination, soit par la méthode microscopique, soit par des méthodes macroscopiques, en ayant soin de faire des expériences de contrôle, c'est-à-dire en les reproduisant avec des streptocoques provenant d'infections autres que la scarlatine.

Nous avons tenu à reproduire nos essais au complet, avec les détails de technique, au risque de paraître long, pour ne pas mériter un reproche, plus sérieux à notre sens, auquel ne nous semblent pas avoir échappé plusieurs des auteurs qui se sont occupés de cette question. Beaucoup de ceux-ci, en effet, se bornent à indiquer les résultats de l'aggluti-

nation, toujours nettement positifs ou négatifs. Or, ce que nous avons observé nous oblige à dire que le résultat est parfois douteux ou difficile à interpréter : c'est pourquoi il nous a paru que la connaissance de la technique suivie était encore indispensable à la juste appréciation de ces résultats.

Par la méthode microscopique, avec des mélanges à titres divers du sérum et du bouillon de culture, les résultats obtenus ont été très inconstants, en ce sens que l'agglutination a fait défaut très souvent, qu'il s'agit d'un sérum scarlatineux du malade même qui avait fourni le streptocoque, ou d'un autre.

Aussi, laissant ce procédé, d'ailleurs plus délicat, nous avons eu recours à la méthode macroscopique, soit en ajoutant le sérum à la culture ; soit en ensemençant un mélange de sérum et de bouillon avec le streptocoque. Dans un certain nombre d'essais faits suivant ce procédé, le résultat a été positif, c'est-à-dire, que l'agglutination s'est produite avec un sérum scarlatineux, alors qu'elle était beaucoup moins appréciable, ou que même elle faisait franchement défaut, avec un autre sérum et dans les tubes témoins privés de sérum. Mais, d'autre part, la même expérience, répétée dans les mêmes conditions, a quelquefois donné un résultat différent, résultat mis plus nettement en évidence dans certaines expériences de contrôle : c'est ainsi qu'un streptocoque d'érysipèle, semé dans un mélange de bouillon et de sérum scarlatineux a été agglutiné aussi bien que le stre

tocoque provenant d'une gorge de scarlatine, et, inversement, celui-ci a été agglutiné, moins fortement il est vrai, par du sérum d'un malade atteint d'érysipèle. Mais, comme on va le voir, ces faits ne sont pas suffisants pour dénier toute propriété spécifique aux streptocoques de provenances diverses, car, avec le sérum normal, on peut observer le même phénomène. D'où il suit que l'agglutination macroscopique, dans les conditions précédentes, serait due à la seule présence du sérum humain. Si on laisse au repos un tube de culture homogène, il ne se forme un dépôt appréciable dans le bouillon qu'au bout d'un temps assez long, après plusieurs jours, variable du reste avec les échantillons ; au contraire, si on y a ajouté un sérum quelconque, le dépôt apparaît (dans la majorité des cas) beaucoup plus tôt, après quelques heures, soit par un phénomène physique, soit parce que le sérum, favorisant le développement rapide du microbe et rendant la culture très riche, entraîne ainsi la précipitation.

En somme, en raison de différences de vitalité ou de virulence, ou pour des causes qui nous ont échappé, l'agglutination du streptocoque, recueilli chez des malades atteints de scarlatine, suivant les méthodes que nous avons indiquées, est possible, mais elle est inconstante, de sorte que nous n'avons pas pu en tirer d'application pratique.

Ces conclusions, contraires à celles de Van der Velde, Meyer, Hasenknopfet Salge, conformes à celles

d'Aronson, Kraus et Low, Baginsky et Sommerfeld, Moser et Pirquet, Weaver, Zelensky, Dopter, Méry sont peu favorables à l'application du séro-diagnostic aux infections streptococciques.

Bien que les recherches que nous avons poursuivies ne nous aient pas conduit à des résultats évidents, nous avons cru devoir les exposer, parce qu'elles pourront par là même, être utiles en montrant les difficultés très grandes de la question.

CONCLUSIONS

I. — L'agglutination du streptocoque, recueilli chez des malades atteints de scarlatine, par le sérum scarlatineux peut être nettement positive, mais cette réaction est variable, inconstante.

II. — Tout sérum, aussi bien du sérum normal que du sérum de malades atteints d'infections autres que la scarlatine, peut avoir une action agglutinative sur un streptocoque de scarlatine. Ce pouvoir agglutinatif, inconstant et variable lui aussi, peut être, dans des recherches comparatives, plus faible que celui du sérum scarlatineux, mais il peut parfois aussi lui être égal.

III. — Ces mêmes résultats se retrouvent par l'emploi de méthodes différentes.

IV. — Des recherches analogues faites sur des streptocoques provenant d'infections autres que la scarlatine, aboutissent à des conclusions semblables

V. — Les résultats obtenus, par les procédés que

nous avons employés, ne peuvent pas conduire à une application pratique du séro-diagnostic des infections streptococciques, ni à des conclusions au sujet de la spécificité du streptocoque dans la scarlatine.

Vu :

Le Président :

DEBOVE.

Vu :

Le Doyen :

DEBOVE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-recteur de l'Académie de Paris,

L. LIARD.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHARD. — Sur le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. *Bull. et mém. Soc. méd. des hôp.*, Paris, 24 juillet 1896, 3 s., XIII, 649-657.
- A propos du séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. *Soc. méd. des hôp.*, Paris, 1896, 4 décembre.
- Sur le passage de la propriété agglutinante à travers le placenta. *Comptes rendus de la Soc. biol.*, 6 mars 1897.
- Réaction agglutinante dans la fièvre typhoïde. *Soc. méd. des hôp.*, Paris, 1897, 7 mai.
- ACHARD et BENSAUDE. — Séro-diagnostic du choléra asiatique chez l'homme. *Presse médicale*, Paris, 1896, 504, 26 septembre.
- Sur la présence de la propriété agglutinante dans le plasma sanguin et dans les divers liquides de l'organisme. *Acad. des Sciences*, 1896, 28 septembre.
- Séro-diagnostic du choléra. *Soc. méd. des hôp.*, Paris, 1897, 23 avril.
- Sur l'agglutination des divers échantillons de bacilles d'Eberth et des bacilles paratyphiques. *Soc. biol.*, 21 novembre 1896. *Presse médicale*, 25 novembre 1897.
- S. ARLOING. — Distribution de la matière agglutinante des microbes dans le sang et quelques autres humeurs de l'organisme. *Soc. de biol.*, Paris, 1897, 30 janvier.
- Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes

du bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide. *C. R. Acad. des sc.*, Paris, 9 mai 1898.

— Agglutination du bacille de la tuberculose. *C. R. Acad. des sc.*, Paris, 16 mai 1898.

— Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. *Congrès de méd. int. de Montpellier*, 1898, p. 117.

S. ARLOING et COURMONT. — Le sérodiagnostic de la tuberculose. *Revue. Gazette des hôpitaux*, 1900, 1^{er} décembre.

ARONSON. — Weitere Untersuchungen über Streptokokken. *Deutsch med. Wochenschr.*, juin 1903, n° 25.

— Untersuchungen über Streptokokken und antistreptokokken serum. *Berlin. Klin. Wochenschr.*, octobre 1902, nos 42 et 43.

BAGINSKY et SOMMERFELD. — Ueber einen constanten bacteriefund bei Scharlach. *Berlin. Klin. Wochenschr.*, 1900, n° 27, p. 588 et n° 28, p. 618.

R. BENSAUDE. — Le phénomène de l'agglutination des microbes et ses applications à la pathologie. *Thèse Paris*, juillet 1897.

BERTHELON. — Variations de l'agglutination des bacilles de la tuberculose en rapport avec l'origine des bacilles et des sérums. *Thèse de Lyon*, mars 1904.

BEZANÇON et GRIFFON. — Pouvoir agglutinatif du sérum dans les infections expérimentales et humaines à pneumocoques. *Soc. biol.*, Paris, 5 juin 1897.

— Pouvoir agglutinatif du sérum dans les infections humaines à pneumocoque. *Soc. biol.*, 19 juin 1897, Paris et *Presse médicale*, 17 juillet 1897.

BORDET. — Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1895, p. 495.

— Sur le mode d'action des sérums préventifs. *Annales de l'Inst. Pasteur*, avril 1896, p. 211.

— Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique. *Annales de l'Inst. Pasteur*, mars 1897, n° 3, p. 194.

- Le mécanisme de l'agglutination. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1899, t. 13, p. 225.
- BREUER. — Zur Widal'schen serodiagnostik des abdominal typhus. *Berlin. Klin. Wochenschr.*, 1896, n^{os} 47 et 48, 23 et 30 novembre.
- BUARD. — De la séro-réaction tuberculeuse. *Thèse de Bordeaux*, mars 1900.
- CHANTEMESSE. — Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. *Soc. méd. des hôp.*, Paris, 1897, 2 avril.
- CHANTEMESSE et WIDAL. — Etude expérimentale sur l'exaltation, l'immunisation et la thérapeutique de l'infection typhique. *Annales de l'Inst. Pasteur* 1892, p. 773.
- CHARRIN et ROGER. — Note sur le développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés. *C. R. de la Soc. de biol.* Paris 1889, p. 667.
- COURMONT. — Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. *Soc. de biol.*, 25 juillet 1896.
- Cent cas de séro-diagnostic. *Presse médicale*, Paris 1897, 30 janvier, n^o 9, p. 50-51.
- Deux cents cas de fièvre typhoïde. *Soc. de biol.* 29 mai 1897.
- Signification de la réaction agglutinante chez les typhiques. *Thèse de Lyon*, 9 juillet 1897.
- DEBOVE. — Réaction agglutinante dans la fièvre typhoïde. *Soc. méd. des hôp.* Paris, 7 mai 1897.
- DEFALLE. — Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1902, p. 595.
- DEGUY et LECROS. — Les agents pathogènes des septicémies diphtériques. *Bull. et mém. soc. méd. des hôp.*, Paris, 1902, 16 mai.
- E. DETOT. — Recherches sur l'agglutination du streptocoque. *Soc. de biologie*, 2 juillet 1904.
- DIEULAFOY. — Sur le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. *Bull. acad. de méd.*, Paris 1896, 3 s., XXXVI, p. 7-12.
- DINEUR. — Recherches sur le mécanisme de l'agglutination

- du bacille typhique. *Bull. de l'acad. méd. Belgique* 1898, p. 653.
- DOPTER. — Sur l'agglutination des streptocoques recueillis chez les scarlatineux. *C. R. soc. de biol.*, Paris, 20 mai 1904, n° 17, p. 787.
- DURHAM. — *Royal society in London*, 3 janvier 1896.
- Note on the diagnostic value of the serum of typhoid fever patients. *Lancet*, 1896, 19 décembre.
- ESPINE (d') et MARIGNAC. — Note sur une espèce particulière de streptocoque retiré du sang d'un homme atteint de scarlatine. *Arch. de méd. expér.*, 1892, p. 458.
- GRIFFON. — L'agglutination du pneumocoque. *Thèse Paris*, 1900.
- GRUBER. — Active und passive Immunität gegen cholera und typhus. *Wiener Klin. Wochenschr.* 1896, n° 11 et 12, p. 183 et 201.
- GRUBER et DURHAM. — Eine neue methode zur raschen Erkennung der cholera vibrio und des typhus-bacillus. *Munch. med. Wochenschr.* 1896, 31 mars, p. 285.
- HAYEM. — Sur la persistance de la propriété agglutinante du sérum des typhiques après chauffage à 57 et 59 degrés. *Bull. et mém. de la Soc. méd. des hôp.*, Paris, 8 janvier 1897, 3 s., XIV, p. 18.
- HASENKNOPF et SALGE. — Ueber agglutination bei Scharlach. *Jarb. f. kinderheilk.* 1903, p. 218.
- HAWTHORN. — De la séro-réaction tuberculeuse par agglutination de cultures liquides homogènes du bacille de Koch. La valeur pour le diagnostic précoce de la tuberculose. *Revue française de méd. et chir.*, n° 18, 23 mars 1903.
- ISSAEF. — Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1893, p. 269.
- R. KRAUS. — Ueber specifische Reactionen in keimfreien filtraten aus cholera, typhus und pest bouillonculturen erzeugt

- durch homologes serum. *Wiener Klin. Wochenschr.* 1897. 12 août, n° 32.
- KRAUS et LOW. — Ueber agglutination. *Wiener klin. Wochenschr.*, 1899, n° 5.
- LANNELONGUE et ACHARD. — *C. R. de l'Acad. des sciences*, 5 octobre 1896, p. 533.
- LEMOINE. — Séro-diagnostic dans les fièvres typhoïdes légères abortives et dans les embarras gastriques. *Bull. et mém. de Soc. méd. des hôp.*, Paris, 1896, p. 669-671.
- LEROUX et LORRAIN. — Fièvre typhoïde et diplococcie. *Arch. de méd. expér.*, 1903, p. 613.
- MAILLART. — Note sur un cas de scarlatine renfermant le streptocoque de d'Espine et Marignac. *Revue méd. de la Suisse Romande*, février et mars 1898.
- MARFAN. — Les angines diphtériques malignes observées en 1901-1902. *Soc. méd. des hôp.*, Paris, 1902, 11 juillet.
- MEILLÈRE et GEORGES. — Les anticorps du sang. *Tribune médicale*, 1903, p. 149.
- METCHNIKOFF. — Etude sur l'immunité, 4^e mémoire. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1891, p. 473 et 474.
- MEYER. — Die agglutination der Streptokokken. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1902, n° 42, p. 751.
- C. MOSER et PIRQUET. — Zur agglutination der Streptokokken. *Centralbl. f. Bakt.*, I, t. XXXIV, n° 6, 12 septembre 1903, p. 560, et n° 7, 7 octobre 1903, p. 714.
- NICOLLE. — L'action des sérums préventifs et thérapeutiques sur les microbes et le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. *Normandie méd.*, Rouen, 1896, XI, 327-334.
- Recherches sur la substance agglutinée. *Annales de l'Inst. Pasteur*, mars 1898, p. 185.
- NICOLLE et TRENEL. — Recherches sur le phénomène de l'agglutination. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1902, p. 562.
- J. NICOLAS. — Production de la réaction de Gruber et Durham par l'action du sérum antidiphtérique sur le bacille de Loeffler. *Soc. de biol.*, 25 juillet 1896, p. 817.

— L'agglutination du bacille de Loeffler par le sérum antidiphthérique est-elle constante ? *Soc. de biol.*, 4 juin 1898, p. 627.

PFEIFFER. — Weitere Untersuchungen über das Wesen des choleraimmunität und über specifisch baktericide Prozesse. *Zeitschrift f. Hyg.*, 1894, Bd. 18, p. 1.

PFEIFFER ET KOLLE. — Ueber die specifische Immunitäts reaction der typhus bacillen. *Zeitschrift f. Hyg.*, 1896, vol. XXI, n° 2, p. 203.

— Zur Differential diagnose der typhus bacillen vermittels serums gegen typhus immunisirten Thieren. *Deutsch. med. Wochenschr.*, 19 mars 1896, p. 183.

ROGER. — Recherches sur l'Oïdo-mycose. *Revue générale des sciences*, 1896, p. 770.

ROTHAMEL. — De l'agglutination du bacille de la tuberculose humaine. *Thèse Bordeaux*, novembre 1899.

VAN DER VELDE. — De la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent pour combattre les streptococcies chez le lapin. *Archives de méd. expér.*, Paris 1897, p. 835.

WEAVER. — Agglutination of streptococci, especially those cultivated from cases of scarlatina, by human sera. *Chicago. Journ. of. inf. Dis.*, t. I. 2 janvier 1904, p. 91 - 106.

WIDAL. — Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde *Soc. méd. des hôp.*, 26 juin 1896 et *Presse médicale*, 27 juin 1896.

— — Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde *Congrès de Nancy*, 8 août 1896, et *Presse médicale*, 8 août 1896.

— — La réaction agglutinante *Soc. de biol.* Paris, 20 décembre 1896.

— — A propos du séro-diagnostic *Soc. méd. des hôp.*, Paris. 29 janvier 1897.

WIDAL ET SICARD. — Recherches sur la réaction agglutinante dans le sang et le sérum desséché des typhiques et dans la sérosité des vésicatoires. *Bull. et mém. de la soc. méd. des hôp.*, Paris, 31 juillet 1896.

— — Recherche sur la nature de la substance

agglutinante et sa fixation sur les albuminoïdes du sang et des humeurs des typhiques. *Acad. de méd.*, 29 Septembre 1896 et *Presse médicale*, 30 septembre 1896.

— — Sero-diagnostic de la fièvre typhoïde. *Soc. méd. hôp.*, Paris, 9 octobre 1896.

— La réaction agglutinante sur les bacilles morts. *Soc. de biol.* Paris, 30 Janvier.

— La mensuration du pouvoir agglutinatif chez les typhiques. *Soc. de biol.* Paris, 20 février 1897 et *Presse médicale*. 6 mars 1897.

WRIGHT ET SEMPLÉ. — On the employment of dead bacteria in the serum diagnosis of typhoid and Malta fever. *British. med. Journ.*, 15 mai 1897.

ZABOLOTNY. — *Deutsche med. Wochenschrift*, 10 juin 1897, p. 392.

ZELENSKI. — Zur agglutination der Streptokokken. *Wiener Klin. Wochenschr.* 13 avril 1904, n° 15, p. 406.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
<i>Introduction</i>	7
PREMIÈRE PARTIE. — <i>Historique</i>	11
CHAPITRE I. — L'agglutination en général et en particulier dans la fièvre typhoïde	11
— II. — Le phénomène de l'agglutina- tion	17
— III. — Le séro-diagnostic dans les infections autres que la fièvre typhoïde	21
— IV. — L'agglutination du streptoco- que, en particulier dans la scarlatine	27
DEUXIÈME PARTIE. — <i>Recherches expérimentales</i>	36
CHAPITRE I. — <i>Technique</i>	36
— 1. — Recherche du streptocoque ..	38
— 2. — Recherche du sérum	40
— 3. — Méthodes d'agglutination	42
CHAPITRE II. — <i>Tableau des expériences</i>	49
— 1. — Provenance des streptocoques	49
— 2. — Provenance des sérums	49
— 3. — Expériences	52
A. — Agglutination du streptocoque de la scarlatine	55 55

	Pges
B. — Agglutination destreptocoques autres que ceux provenant de scarlatine.....	76
C. — Agglutination du bacille de Loeffler.....	81
D. — Note d'expériences inédites de M. le professeur agrégé Méry	84
TROISIÈME PARTIE. — <i>Interprétation des résul-</i> <i>tats</i>	87
<i>Conclusions</i>	97
<i>Bibliographie</i>	99